

UC-NRLF



B 3 789 182















# **ZENTRALBLATT**

für

## **Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten**

In Verbindung mit

**Prof. Dr. R. Abel,**  
Geh. Obermed.-Rat in Jena

**Prof. Dr. R. Pfeiffer**  
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

**Prof. Dr. M. Braun**  
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

**Prof. Dr. O. Uhlworm** und  
Geh. Reg.-Rat in Berlin

**Dr. A. Weber**  
Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

**Erste Abteilung. 80. Band**

**Medizinisch-hygienische Bakteriologie  
und tierische Parasitenkunde**

**Originale**

Mit 12 Tafeln und 37 Abbildungen im Text



**Jena**

**Verlag von Gustav Fischer**  
1918

THE  
JOURNAL

OF THE  
AMERICAN  
ASSOCIATION  
OF  
UNIVERSITY  
LIBRARIANS

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 80. Heft 13.

Ausgegeben am 31. August 1917.

*Nachdruck verboten.*

## Was leistet die bakteriologische Typhusuntersuchung? Entgegnung auf die Arbeit von Kalthoff, Bd. 79. S. 145.

Von Privatdozent Dr. K. E. F. Schmitz,  
z. Z. Hygieniker bei einem Armeekorps.

Im Heft 4 des 79. Bandes dieser Zeitschrift auf S. 145 veröffentlicht Kalthoff eine längere Arbeit, die sich in der Hauptsache mit den Resultaten meiner Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose, welche ich gelegentlich der Jenaer Epidemie ausgeführt habe, befaßt. Obwohl mir Kalthoff in den meisten Punkten zustimmen muß und, wie bereits hier festgestellt sei, gerade in denjenigen, die mir am wichtigsten erscheinen, nämlich daß die Ausbeute an Typhusbazillen in der ersten Woche relativ hoch ist, so zeigt doch die Arbeit in ihrem äußeren Zuschnitt ein Gepräge, das es so aussehen läßt, als wenn die Ergebnisse von den meinigen grundverschieden wären. Außerdem befinden sich in der Arbeit verschiedene Behauptungen, die nicht unwidersprochen bleiben dürfen.

Für die von mir gerügten schlechten Ergebnisse der Typhusuntersuchung führt Kalthoff verschiedene Gründe an, die nach seiner Meinung ausschließen, daß ich meine Resultate verallgemeinern könnte. Den ersten Grund, den er als vielleicht bestehend in Rechnung zieht, finde ich auf S. 146. Er spricht hier davon, daß meine „niedrigen positiven Zahlen auf eine besonders schwere Zucht- und Agglutinierbarkeit des die Jenenser Epidemie bedingenden Stammes zurückzuführen sei“. Es ist sehr zu bedauern, daß Herr Kalthoff, bevor er diese Meinung von sich gab, sich nicht mit mir persönlich in Verbindung gesetzt hat, um das Nötige über diesen Punkt zu erfahren; es wäre auf diese Weise zu vermeiden gewesen, daß solch eine gänzlich unbegründete Hypothese das Bild unnötig verschleierte. Außerdem kann ich wirklich versichern, wenn solche Verhältnisse vorgelegen hätten, dann hätte ich nicht angestanden, das in meiner Veröffentlichung auch mitzuteilen. Das Fehlen einer diesbezüglichen Bemerkung ist also nur darauf zurückzuführen, daß es sich tatsächlich um einen normalen Typhusstamm gehandelt hat, der sehr gut wuchs und an Agglutinierbarkeit nichts zu wünschen übrig ließ. Dieses vollkommen normale Verhalten hätte Kalthoff auch aus der Bemerkung schließen können, daß es uns gelungen war, aus dem Wasserleitungswasser den Keim zu züchten. Diese anerkannt schwierigste Züchtung des Typhusbacillus wäre wohl kaum mit einem schlecht wachsenden Stamm gelungen.

Ferner findet sich auf S. 157 folgendes. Nachdem auseinandergesetzt ist, daß Kalthoff bei seinem Material in der Diagnosenzeit der ersten 5 Wochen 92,8 Proz. der untersuchten Fälle positiv fand, führt er aus: „Nach Angabe Schmitz“ auf S. 245 gelang diese Diagnose während der Jenaer Epidemie jedoch nur in 61,47 Proz. Dieses sehr wenig befriedigende Resultat Schmitz' ist wohl teilweise auf die unzweckmäßige zeitliche

Einsendung des Untersuchungsmaterials zurückzuführen, von der er auf S. 235 spricht. Da zu jeder Diagnosenstellung aber die richtige Anwendung aller zu Gebote stehenden Mittel von größter Wichtigkeit ist, so ist, meiner Ansicht nach, Schmitz aus diesem Grunde nicht berechtigt, seine ungünstigen Resultate als allgemein gültig und als über die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose entscheidend anzusehen.“ Es wird hier also so getan, als wenn ich bereits in meiner Arbeit eingeräumt hätte, daß eigentlich die Einsendung so unzweckmäßig gewesen wäre, daß sie zu einer nutzbringenden Verwendung ungeeignet sei. Was steht aber auf S. 245 bei mir? Es steht dort folgendes: „Gerade diejenige Zeit, die für unsere Zwecke am geeignetsten wäre, von der ersten bis fünften Woche, wurde eigentlich weniger zur Einsendung benutzt. Die Nachuntersuchungen, d. h. also die Feststellung, ob noch Bazillen ausgeschieden werden, nahmen einen breiteren Raum ein, als die Diagnosenuntersuchungen.“ Es ist aber nun für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Verfahren ganz gleichgültig, zu welcher Zeit man die meisten Untersuchungen ausgeführt hat. Ich muß mich nur auf eine bestimmte Zeit mit der Auszählung beschränken, und für diese Zeit kann ich dann herausrechnen, wie groß das Ergebnis gewesen ist. Kalthoff verschweigt vollständig bei seiner Rüge, daß ich gerade aus diesem Grunde jede Auszählung doppelt vorgenommen habe, daß ich gerade deshalb die ersten 5 Wochen gesondert betrachtet habe, und schreibt so, als wenn die 61,47 Proz., die ich fand, auf die „zu vielen Nachuntersuchungen“ zurückzuführen wären. In Wirklichkeit beziehen sich diese 61,47 Proz. nur auf die ersten 5 Wochen, also mit Ausschluß der zu vielen Nachuntersuchungen. Wenn diese mitgezählt werden, beträgt die Ausbeute 50,11 Proz. Im übrigen möchte ich darauf hinweisen, daß die Zahl der Patienten in den ersten 5 Wochen bei mir 353 gewesen ist, also nicht unbeträchtlich mehr, als bei Kalthoff, der insgesamt überhaupt nur 221 Fälle zur Verfügung hat. Es dürfte doch zu wünschen sein, daß eine solche Rüge, die die „richtige Anwendung aller zu Gebote stehenden Hilfsmittel“ verlangt, nicht abgegeben werde, bevor nicht der gerügte Text mit dem richtigen Verständnis gelesen und wiedergegeben ist.

Wenden wir uns nun den Untersuchungen Kalthoffs zu. Wie er ausführt, glaubt er, bei seinen Auszählungen über ein weit besseres Material zu verfügen, als es mir zu Gebote stand, und zwar verarbeitete er die Untersuchungen, die von 1910 bis 1916 aus der Medizinischen Klinik in Kiel dem Hygienischen Institut ebendort übergeben wurden. Die Gesamtzahl der Fälle betrug 221. Wohlgemerkt, es soll nicht etwa festgestellt werden, was die Typhusdiagnose überhaupt leisten kann, sondern ihre mittlere Leistungsfähigkeit steht zur Diskussion. Ich frage deshalb den objektiven Leser, welche Zusammenstellung wird wohl das bessere Urteil abgeben können: diejenige, die die Resultate von 221 Fällen, die während 6 Jahren untersucht wurden, verwertet, oder diejenige, die 445 Fälle im Laufe eines Vierteljahres zusammenstellt? Ist es nicht ganz selbstverständlich, daß bei der ersten viel höhere positive Ziffern herauskommen müssen, weil die Möglichkeit vorhanden war, die Patienten, bei denen noch kein positives Ergebnis zu erzielen war, immer und immer wieder zu untersuchen? Werden dadurch die Nachteile der schlechten Untersuchungsmethoden nicht vollkommen aufgehoben, wenn ich sie immer wieder benutzen kann? Andererseits zeigt sich nicht im Drange einer Epidemie, wo ein Fall den



anderen jagt, viel besser, was eine Untersuchungsmethode leistet? Wir beurteilen auch die Schlagfertigkeit einer Armee nicht nach Besichtigungen und Manövern im Frieden, sondern nach ihren Erfolgen im Felde. Daß die Verhältnisse bei den Kalthoffschen Zahlen so gewesen sind, wie ich es eben andeutete, läßt sich aus seinen eigenen Angaben ersehen. Auf S. 157 ist zu lesen: „Verhältnismäßig groß ist die Zahl der negativen Untersuchungen, die bis zum ersten positiven Befund gemacht wurden.“

Die von Kalthoff errechneten Zahlen des Typhusnachweises sind nun um ein wenig größer, wie die meinigen. Wird dadurch meine Behauptung, daß die absoluten Zahlen und die Prozentzahlen ganz unbefriedigend gering sind, erschüttert? Wenn man sich nur auf die Kalthoffschen Zahlen zu stützen hätte, müßte man die Schlußfolgerungen genau so ziehen, wie ich es in meiner Arbeit getan habe! Denn wenn wir seine höchste Zahl von 28 Proz. der erkannten Typhuspatienten in der zweiten Woche vergleichen mit den von ihm selbst angeführten Zahlen in der Monographie von Gaethgens, 53, 64, 73, 88, ja sogar 100 Proz., so müssen wir sagen, daß der Abstand sehr groß ist. Kalthoff stimmt deshalb auch meiner Forderung, daß alle Untersuchungsmethoden möglichst gleichzeitig herangezogen werden sollen, zu, behauptet aber, daß das schon überall in Uebung sei. Nach seinen Angaben stimmt das vollkommen für die Medizinische Klinik in Kiel. Gerade die günstigeren Ergebnisse der Kalthoffschen Statistik, nämlich daß er in den ersten 5 Wochen 92,8 Proz. der Kranken diagnostizieren konnte, gegenüber 61,47 Proz. bei mir, führe ich darauf zurück, daß diese Forderung, die ich ganz allgemein erhoben habe, dort erfüllt wurde. Ich nehme somit die günstigeren Zahlen Kalthoffs für einen Beweis meiner Anschauungen. Andererseits muß ich aber entschieden in Abrede stellen, daß die möglichst vielseitige Untersuchung überall bereits gang und gäbe wäre. In den verschiedenen Untersuchungsstellen, in denen ich mich bisher betätigt habe, machte ich überall die gleiche Erfahrung, daß zu allermeist Stuhlproben eingesandt werden, also diejenige Untersuchung, die die schlechtesten Resultate zeigt. Manchmal wird auch die Widalsche Reaktion häufiger benutzt, aber gerade die wichtigste Untersuchung, die Blutuntersuchung, wird am meisten vernachlässigt. Das geht auch aus meinem Material der Jenenser Untersuchungen offenkundig hervor. Von den 443 Patienten, die in der Tabelle 9 zusammengestellt sind, wurden 182 nur auf Stuhlbakterien untersucht. Die nächstgrößten Zahlen sind diejenigen, die mit Widal und Stuhluntersuchungen untersucht wurden, nämlich 131. Alle übrigen Untersuchungen bleiben weit unter 100. Daraus geht klar und deutlich hervor, daß zurzeit die praktischen Aerzte die Ueberzeugung noch nicht haben, daß eine möglichst vielseitige Untersuchung notwendig ist. Deshalb empfahl ich diese Methode auf das wärmste, ohne den Anspruch zu erheben, daß ich der erste gewesen wäre, der dieses verlangt.

Mit meinen übrigen Forderungen, die Einsendung betreffend, stimmt Kalthoff überein. Er schlägt nur vor, das Blut durch Zusatz von Hirudin (anstatt meines Schüttelverfahrens) flüssig zu erhalten. Wenn er mein Verfahren als umständlich kritisiert, so möchte ich seinem Vorschlag entgegenhalten, daß das Hirudin bekanntlich sehr schwer zu beschaffen und entsprechend ziemlich teuer ist. Das würde einer all-

gemeinen Einführung, wie sie mir vorschwebte, doch sehr hindernd im Wege stehen.

Besonders scharf wird von Kalthoff mein Satz angegriffen, daß die Untersuchungen um so schlechtere Ergebnisse liefern, je weiter wir uns vom Erkrankungstage entfernen. Er stellt besonders auf Tabelle 9 auf S. 157 einige Zahlen zusammen, die das Gegenteil beweisen sollen. Wie hier nur nebenbei bemerkt sei, findet sich bei der Wiederholung dieser Zahlen auf S. 158 ein sinnstörender Druckfehler. Dort werden die positiven Diagnosen in der ersten Woche mit 49,2 Proz. angegeben, während in Wirklichkeit 69,2 Proz. vorhanden waren. Die Zahlen Kalthoffs betragen an positiven Fällen in der 1. Woche 69,2 Proz., in der 2. Woche 80,2 Proz., in der 3. Woche 83,0 Proz. Auf Grund dieser Zahlen meint er, daß sich ein einwandfreies Bild ergebe, welche Krankheitswoche am günstigsten dastände. Es ist dabei aber folgendes zu beachten: Es sind bei der Errechnung in Tabelle 9 alle Untersuchungsmethoden zusammengezählt worden, auch die Widalsche Reaktion. Von dieser habe ich niemals behauptet, daß sie ungünstige Resultate ergäbe; fand ich sie doch in der Diagnosenzeit im Durchschnitt bei 76 Proz. positiv. Meine Hauptkritik wandte sich gegen die Kulturmethoden, und hier hauptsächlich gegen die Stuhluntersuchungen. Wir müssen also bei einer solchen Zusammenstellung, wie sie die Tabelle 9 Kalthoffs gibt, zum mindesten die Widalsche Reaktion weglassen. In der Spalte „Agglutination allein“ finden wir hier in der 1. Woche 6, in der 2. Woche 11, in der 3. Woche 13 Patienten, so daß sich die Zahlen der positiven Fälle in der 1. Woche auf 46, in der 2. auf 66, in der 3. Woche auf 31 verringern. In Prozenten auf die Gesamtzahlen berechnet, erhalten wir dann 61 Proz., statt 69,2 Proz., 68 Proz. statt 80,2, 58 Proz. statt 83,0 Proz. Wir sehen also, daß von der Ueberlegenheit der späteren Wochen sehr wenig übrigbleibt; nur die 2. Woche übertrifft die 1. Woche um 7. Proz. Die 3. hat dagegen schon 3 Proz. weniger. Leider ist aus der Tabelle nicht klar ersichtlich, ob in den Spalten, in denen neben einer anderen Untersuchung auch die Agglutination vorgenommen wurde, beide oder nur eine von beiden Untersuchungen positiv ausfiel. Sollte das letztere der Fall sein, so würden sich die Zahlen noch weiter verschieben.

Als die beste Kombination der Untersuchungen betrachtet Kalthoff die Blutzüchtung und die Agglutination, da 24,4 Proz. hier positiv waren. Leider ist die Tabelle 8 nicht so zusammengestellt, daß man aus ihr ersehen könnte, worauf sich diese Prozentzahl bezieht. Es ist nur die Zahl der positiven Befunde angegeben. Durch Umrechnung stellte ich fest, daß sich diese 24,4 Proz. auf die Gesamtzahl der Typhuspatienten von 221 beziehen, nicht etwa auf die Zahl der Patienten, die mit Blutzüchtung und Agglutination untersucht wurden. Die Zahl der letzteren wird überhaupt nicht angegeben. Gegen eine solche Berechnungsart und Urteilsfällung muß energisch protestiert werden, da sie selbstverständlich ein ganz falsches Bild ergibt. Diejenige Untersuchungsart, die am häufigsten angewandt wurde, gibt dann natürlich auch die meisten positiven Ergebnisse.

Bei der Widal-Reaktion erhielt Kalthoff in den ersten 4 Wochen wesentlich geringere positive Zahlen als ich. Die Differenz beträgt in der 1. Woche zum Beispiel 41,5 Proz. gegen 66,07 Proz., also etwa 25. Diese merkwürdige Differenz glaubt er, daraus erklären zu können, daß ich einen Typhusstamm aus der Jenaer Epidemie selbst

zur Widal'schen Reaktion benutzt habe. Diese Deutung trifft nicht zu. Es handelte sich vielmehr um einen alten Laboratoriumsstamm, der als einziges Eigentümliche das hatte, daß er schwer agglutinierbar war. Gerade wegen dieser Eigenschaft wurde er von uns ausgewählt, um schwach agglutinierende Sera von vornherein auszuschließen. Die von mir gegebenen Zahlen stellen also sogar Mindestzahlen dar.

In der Zusammenstellung seiner Schlußsätze weist Kalthoff darauf hin, daß die Leistungsfähigkeit der von Schmitz verwandten Züchtungsverfahren vielleicht nicht so hoch sei, wie die in Kiel gebräuchlichen. Besonders von dem Kongorotagar nimmt er an, daß er schlechte Ergebnisse liefert. Da er als Kliniker keine eigene Erfahrung hierin hat, stützt er sich auf die Autorität von Gelhaar, der in einer Arbeit (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 312) nachgewiesen zu haben glaubt, daß der Kongorotnährboden dem Bitterschen Chinablaunährboden gewaltig unterlegen sei. Meine Arbeit über die Eignung des einfachen Kongorotnährbodens in der bakteriologischen Typhusdiagnose (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 15) scheint Kalthoff übersehen zu haben. Ich zeigte damals, daß der Kongorotnährboden dem altbewährten und gebräuchlichen v. Drigalski-Conradi-Nährboden ungleich überlegen ist. Aber ich kann auch heute Zahlen anführen, die neuestens gewonnen sind. Obwohl ich die Beobachtungen noch nicht als abgeschlossen betrachtete, sind sie doch beweiskräftig genug, um die Behauptungen von der Unterlegenheit des Kongorotnährbodens zu entkräften.

Sobald ich von der Arbeit Gelhaars Kenntnis genommen hatte, die den Bitterschen Nährboden so günstig dastehend zeigte, führte ich denselben in der mir unterstellten Korpsuntersuchungsstelle ein. Von Ende November 1916 bis Ende April 1917 wurden nun mit dem neuen Verfahren 502 Typhuseinsendungen untersucht. Der Gang der Untersuchung war folgender: Die eingesandten Stuhlproben wurden zunächst mit etwas Kochsalzlösung verdünnt, dann ein großer Tropfen auf eine Lentz-Tietzsche Malachitgrünplatte, weiter ein Tropfen auf 3 Chinablaun-, Kongorot- und Endo-Platten ausgestrichen. Nach 24 Stunden wurde in der üblichen Weise die Malachitgrünplatte abgeschwemmt und ein Tropfen, wie bei der direkten Aussaat, auf dieselben Nährböden ausgestrichen. Jede Abimpfung von jeder Platte wurde genau gebucht, und jede Abimpfung bis zu Ende vollkommen durchuntersucht in der üblichen Weise auf Coli-Reihe und quantitative Agglutination. Da auch von jeder Platte so viel abgeimpft wurde, wie nur irgend möglich, so stellen die Endzahlen ein gutes Bild der Leistungsfähigkeit jedes einzelnen der Nährböden dar.

Es stellten die Nachuntersuchungen und die von nur Typhusverdächtigen auch hier einen großen Teil, so daß die Zahlen der positiven Fälle im Vergleich zu den Einsendungen nur gering sind.

Insgesamt wurden 28 Fälle positiv gefunden, und zwar 19mal Typhus, 4mal Paratyphus A und 5mal Paratyphus B. Die Auszählung, wie diese 28 Ergebnisse diagnostiziert wurden, ergab folgendes:

Tabelle I.

Von 28 Fällen wurden diagnostiziert:

a) mit dem direkten und dem Malachitgrünverfahren	7
b) nur mit dem direkten Verfahren	9
c) nur mit dem Malachitgrünverfahren	12
	28

Das direkte Verfahren führte also bei 16 Fällen zum positiven Resultat, das Malachitgrünverfahren in 21 Fällen.

Die Tabelle I zeigt deutlich, daß das Lentzsche Malachitgrünverfahren dem direkten Ausstrich wesentlich überlegen ist.

Die Eignung der einzelnen Nährböden bei beiden Verfahren zusammengekommen, zeigt die nächste Tabelle:

Tabelle II.

Es wurden positiv gefunden bei beiden Aussaaten zusammen:

1) mit dem Kongorotnährboden allein	8
2) " " Endo-Nährboden allein	4
3) " " Bitterschen Nährboden allein	0
4) " " Kongorot- und dem Endo-Nährboden	4
5) " " Kongorot- und dem Bitterschen Nährboden	6
6) " " Endo- und dem Bitterschen Nährboden	4
7) " " Kongorot- und dem Endo- und dem Bitterschen Nährboden	1

Die Tabelle II zeigt deutlich eine Ueberlegenheit sowohl des Kongorotnährbodens wie des Endo-Nährbodens gegenüber dem Bitterschen Nährboden. Besonders aus No. 3 geht das deutlich hervor; nicht ein einziges Mal wurde eine Diagnose allein mit dem Bitterschen Nährboden gestellt. Wenn wir ihn also ganz weggelassen hätten, hätten wir genau so viel Diagnosen gestellt, wie mit ihm.

Tabelle III.

Es wurden mit den verschiedenen Nährböden bei beiden Verfahren zusammen positive Ergebnisse erzielt:

1) mit dem Kongorotnährboden	19mal
2) " " Bitterschen Nährboden	11 "
3) " " Endo-Nährboden	13 "

Tabelle IV.

Bei dem direkten Verfahren führte zur positiven Diagnose:

1) Kongorotnährboden	10mal
2) Endo-Nährboden	10 "
3) Bitterscher Nährboden	2 "

Tabelle V.

Bei dem Malachitgrünverfahren führte zur positiven Diagnose:

1) Kongorotnährboden	13mal
2) Bitterscher Nährboden	10 "
3) Endo-Nährboden	4 "

Die Tabellen III, IV und V geben die Zahlen, mit denen die verschiedenen Nährböden an den positiven Ergebnissen beteiligt sind. In allen 3 Tabellen steht der Kongorotnährboden mit der Diagnosenziffer an der Spitze; jedenfalls ist er dem Bitterschen Nährboden weit überlegen. Nur bei der direkten Aussaat gibt er das gleiche Ergebnis wie der Endo-Nährboden. Letzterer ist dem Bitterschen Nährboden einmal bei dem Malachitgrünanreicherungsverfahren unterlegen, sonst demselben überlegen.

Selbstverständlich fiel uns schon kurze Zeit nach der Einführung des Bitterschen Nährbodens diese starke Unterlegenheit auf, und ich fragte mich alsbald, worauf wohl dieselbe zurückzuführen sei. In der Herstellung hielten wir uns immer genau an die Vorschriften Gelhaars. Um den Nährboden zu kontrollieren, wurden auch mehrfach auf ihm echte Typhus- und echte Coli-Bazillen ausgesät. Bei solchen Versuchen ließ er keine Fehler erkennen.



Außer bei den oben auseinandergesetzten Typhusuntersuchungen probierte ich dann weiterhin den Chinablaunährboden (ohne Malachitgrün) noch bei einer größeren Ruhrepidemie aus. Ueber die positiven Ergebnisse bei der Ruhr gibt Gelhaar keine Zahlen an; jedoch sagt er auf S. 319 des 78. Bandes, daß „der einfache Chinablaunährboden nach den Erfahrungen des Kieler Untersuchungsamtes und anderer bakteriologischer Laboratorien, zum Beispiel der bakteriologischen Untersuchungsstelle des Kieler Sanitätsamtes, in einer großen Anzahl von Fällen im Laufe der letzten 2 Jahre sich zur Isolierung der verschiedenen Ruhrbakterientypen in hervorragender Weise bewährt habe“.

Bei den Versuchen, die ich anstellte, säte ich die Entleerungen von 20 sicheren Ruhrkranken (es handelte sich in allen Fällen um Abgang von Blut und Schleim, die zur Aussaat kamen) auf je eine Kongorot-, Chinablau- und Endo-Platte aus. Die ganze Untersuchung von der Abnahme bis zur endgültigen Feststellung der herausgezüchteten Bakterien wurde aus besonderen Gründen von mir selbst vorgenommen, so daß ich sicher bin, daß nicht irgendwelche Fehler vorkamen. Auch die außerordentlich große Anzahl der (unten besprochenen) Abimpfungen wurde aus besonderen Gründen unternommen, über die ich später berichten werde. Es wurden die Entleerungen in der angegebenen Reihenfolge ausgestrichen; zuerst Kongorot, dann Chinablau und zum Schluß Endo-Nährboden. Und zwar wurde bei den ersten 12 Fällen der Ausstrich doppelt ausgeführt, erstens sofort am Krankenbett und zweitens je ein Schleimflöckchen, nachdem es in Kochsalzlösung gehörig abgespült war. Bei den 8 letzten Untersuchungen wurde nur noch nach kräftiger Abspülung in Kochsalzlösung ausgesät. Von diesen insgesamt 20 Patienten wurden nun im ganzen 176 Kulturen herausgezüchtet. Von diesen ergaben sich durch die weitere Prüfung 83 als Ruhrbazillen. Bei 18 der untersuchten 20 Patienten wurden Ruhrbazillen nachgewiesen,

Tabelle VI.

Von 83 Ruhrkulturen stammten vom:

1) Kongorotnährboden	37
2) Endo-Nährboden	45
3) Chinablaunährboden	1
Zusammen	83

Bei den 12 doppelt untersuchten Patienten wurden 138 Kulturen herausgezüchtet; von diesen waren 61 Ruhrkulturen. Dieselben verteilen sich, wie Tabelle VII zeigt:

Tabelle VII.

Von 61 Ruhrkulturen sind:

1) nach direkter Aussaat gezüchtet	14
2) nach Abspülung der Schleimflocke in Kochsalzlösung	47
Zusammen	61

Tabelle VIII.

Die 14 Ruhrkulturen der direkten Aussaat verteilten sich:

1) auf den Kongorotnährboden	3
2) „ „ Chinablaunährboden	0
3) „ „ Endo-Nährboden	11
Zusammen	14

Die 47 Ruhrkulturen der Aussaat nach Abspülung verteilten sich:

1) auf Kongorotnährboden	25
2) „ den Chinablaunährboden	1
3) „ „ Endo-Nährboden	21
Zusammen	47

nur 2 fielen also bei der Untersuchung negativ aus. Die Leistungen der einzelnen Nährböden zeigen nun vorstehende Tabellen.

Die Tabellen VII und VIII zeigen ohne weiteres, daß auch hier Kongorot- und Endo-Nährboden dem Chinablaunährboden weit überlegen sind. Dieselben geben nur Aufschlüsse über die Kulturen, die aus den 12 Patienten gewonnen wurden, die doppelt untersucht wurden. Wir sehen, daß nach der Abspülung der Schleimflocken, wo also die Begleitbakterien ziemlich entfernt sind, der Kongorotnährboden wieder bei weitem die besten Ergebnisse hat. Bei den 8 übrigen Patienten, bei denen nur das eine Verfahren (nach Abspülung) ausgeführt wurde, fanden sich 38 Kulturen verdächtig, von diesen waren 22 Ruhrkulturen. Diesmal war der Endo- dem Kongorotnährboden überlegen. Von den 22 Ruhrkolonien stammten 13 vom Endo-, 9 vom Kongorotnährboden.

Wenn man die Ergebnisse der 2. Aussaat bei den 12 ersten, und der Aussaat bei den letzten 8 Patienten zusammenzählt, erhält man jedoch für beide Nährböden (Kongorot und Endo) dieselben Zahlen, nämlich 34, siehe Tabelle IX:

Tabelle IX.

Von 69 Kulturen, die nach Abspülung der Schleimflocken gewonnen wurden, stammten:

1) von Kongorotnährboden	34
2) „ Chinablaunährboden	1
3) „ Endo-Nährboden	34
Zusammen	69

Zusammenfassend, läßt sich also sagen, daß bei diesem Ruhrexperiment der Chinablaunährboden sich den beiden anderen sehr stark unterlegen zeigte. Worauf diese Unterlegenheit zurückzuführen ist, ist nicht ohne weiteres ersichtlich. Jedoch scheint es mir daher zu kommen, daß der Indikatorumschlag lange nicht die Schärfe und Deutlichkeit besitzt, wie beim Kongorot- und Endo-Nährboden. Im Gegensatz zu Gelhaar, muß ich feststellen, daß außerordentlich leicht eine diffuse Bläuung des ganzen Nährbodens und damit sämtlicher Kolonien eintritt. Auch wenn die Kolonien einzeln stehen, erfolgt der Umschlag nicht, wie beim Kongorot- und Endo-Nährboden, hauptsächlich im Innern der Kolonien selbst, sondern es gibt immer eine Bläuung des Substrates. Selbstverständlich haben wir peinlichst darauf gesehen, daß die Reaktion des Nährbodens richtig gewesen ist, so daß unsere schlechten Ergebnisse nicht durch Reaktionsfehler verschuldet sein können. Andererseits muß ich den ähnlichen Vorwurf, den Gelhaar dem Kongorotnährboden macht, darauf zurückführen, daß nicht mit der nötigen Sorgfalt auf die Reaktion des verwendeten Agars Bedacht genommen wurde. Um den Kongorotnährboden zu bereiten, bedarf man eines Agars, der gerade schwach alkalisch ist. Ist er stärker alkalisch, so ist er unbrauchbar, da die Coli-Bakterien ihn dann nicht genügend zu schwärzen vermögen; ist er dagegen schwächer alkalisch, dann kann leicht einmal der Umschlag in der ganzen Nährbodenmasse eintreten. Leider läßt sich ja der Zusatz des nötigen Alkali nicht ein- für allemal festlegen, da jeder Agar wieder neue Säurewerte hat. Jedoch ist die Herstellung des Kongorotnährbodens nicht so schwierig, daß es für andere unmöglich wäre, ihn in der richtigen Weise zusammenzusetzen. Bis jetzt hat ihn mir jeder Laboratoriumsdiener, der unter meiner Leitung arbeitete, gut herzustellen gelernt. Warum zeigt sich nun aber gerade der Kongorotnährboden den anderen so sehr überlegen? Es liegt das an einem Grunde, auf den

ich schon in meiner ersten Veröffentlichung hingewiesen habe. Bei der Abimpfung gestattet uns der Kongorotnährboden, im Gegensatz zu allen anderen Nährböden, nicht nur die Unterscheidung zwischen Typhus- bzw. Ruhr- und Coli-Kolonien, sondern er macht auch die häufig auftretenden Kokken und Heubazillen deutlich kenntlich. Die Kokkenkolonien zeigen eine deutliche rosa-milchige Trübung; die Heubazillen sind eigentümlich dunkel und geriffelt gewachsen. Beide Arten von Kolonien sind in der Durchsicht opak. Einzig und allein die pathogenen Erreger wachsen in hellen, tautropfenartigen Kolonien mit der granatroten Farbe des Nährbodens. Kein anderer Nährboden zeigt dieselbe Erscheinung, auch der Endo-Nährboden nicht, der aus diesem Grunde nur in der Hand des Geübten die gleichen Erfolge wie der Kongorotnährboden haben kann. Die Fehlabimpfungen sind daher bei den anderen Nährböden bedeutend häufiger als bei dem Kongorotnährboden.

Noch auf ein merkwürdiges Mißverständnis muß ich kurz eingehen. Ich habe bereits in mehreren Veröffentlichungen, insbesondere auch wieder bei Gelhaar, gelesen, daß ich bei dem Kongorotnährboden nur die Hälfte derjenigen Indikatormenge angegeben habe, wie Liebermann und Acèl, nämlich 0,15 gegenüber 0,3 Proz.; diese Angabe ist nicht richtig, denn der Liebermannsche Kongorotnährboden ist nicht 0,3-prozentig. Die Vorschrift lautet nach Liebermann: 30 ccm einer 1-proz. wäßrigen Lösung von Kongorot zu 100 ccm Milchzuckeragar zu geben. Ich habe infolgedessen nicht 100 ccm, sondern 130, also 0,3 g Kongorot auf 130 ccm Agar; das ist 0,23 Proz., aber nicht 0,3 Proz. Uebrigens möchte ich bemerken, daß die Quantität des zugesetzten Indikators nicht von ausschlaggebender Bedeutung ist. Die von mir angegebene Menge von 0,15 Proz. reicht zu deutlichem Umschlag vollkommen aus. Höhere Werte können genommen werden, sind aber natürlich nicht notwendig. Von geringeren Mengen möchte ich absehen, da, wie ich feststellte, die Schärfe des Umschlages leidet.

Wie ich noch ausdrücklich bemerken möchte, sind die in dieser Abhandlung erwähnten Kongorotnährböden ohne Zusatz von Serum hergestellt worden. Die Zahlen beziehen sich also auf den Originalkongorotnährboden. Leider ist es während der jetzigen Fleischknappheit ganz unmöglich, das nötige Blut für die Herstellung des Serumagars zu erhalten. Die geringe Quantität, die man überhaupt bekommt, verbraucht sich bei uns für die Herstellung von Loeffler-Serum. Ich bin überzeugt, daß, wenn es mir möglich gewesen wäre, den Serumagar zu benutzen, die Zahl der positiven Typhusuntersuchungen sich noch um einen guten Prozentsatz vermehrt hätte. Dem Einwand Gelhaars und anderer kann ich nicht zustimmen, daß es unmöglich ist, daß der Serumzusatz ein besseres Resultat ergäbe, weil nur „Extraktivstoffe“ in den Agar gelangten. Ich möchte demgegenüber darauf hinweisen, daß es auch Eiweißkörper gibt, die nicht hitzekoagulabel sind. Außerdem stellte ich in meiner diesbezüglichen Veröffentlichung bereits ausdrücklich fest, daß für alle die Bakterien, die den Loefflerschen Nährboden nicht verflüssigen (wozu auch Typhus und Ruhr bekanntlich gehören), der koagulierte Teil des Serums als Nahrung nicht in Betracht kommt. Dementsprechend beobachtete ich auch ein üppiges Wachstum der sonst schlecht wachsenden Typhusstämme, die ich damals beobachtete, in dem Kondenswasser des Loefflerschen Röhrchens. Auch möchte ich nochmals wiederholen, daß mein Vorschlag, Serum zuzusetzen, hauptsächlich die Absicht hatte, schlecht wachsende Typhus-

bazillen, wie dieselben in nicht ganz unerheblichem Prozentsatze vorkommen, zu besserem Wachstum, und damit zum Nachweise zu bringen. Wie ich den Nachweis der besseren Wirksamkeit des Serumnährbodens mit solchen schlecht wachsenden Stämmen führte, so kann auch verlangt werden, daß die Nachprüfung des Serumagars mit solchen schlecht wachsenden Stämmen ausgeführt wird.

Aus meinen Zahlen der Jenenser Typhusepidemie sowohl, wie aus den Zahlen Kalthoffs ist der Schluß zu ziehen, daß die gegenwärtige bakteriologische Typhusdiagnose noch weitab davon ist, befriedigende Ergebnisse zu zeitigen. Es ist dies letzten Endes eine Frage der Technik, insbesondere der Nährböden. Und daß diese Frage von der Mehrzahl der Forscher noch durchaus nicht als gelöst betrachtet wird, das beweist einmal die außerordentlich vielgestaltige Art der Typhusdiagnose, zu der wir unsere Zuflucht nehmen, und zweitens die unglaublich vielen Nährböden, die bereits angegeben und versucht worden sind.

Neuestens macht besonders das Bierastsche Verfahren der Petrolätheranreicherung durch seine besseren Erfolge von sich reden. Auch wir können bestätigen, daß sich mit demselben bessere Erfolge erzielen lassen. Eine Zeitlang versuchte ich es neben den bereits genannten Verfahren in meiner Abteilung. Leider wurde meiner Absicht der genauen Wertbestimmung ein Ziel gesetzt durch die Ungunst der Zeit. Infolge des Rohstoffmangels konnte uns von Kahlbaum kein Petroläther mehr geliefert werden.

Aber wenn auch das Bierastsche Verfahren eine etwas höhere Diagnosenziffer gestatten wird, so glaube ich doch nicht von ihm, daß es alle unsere Forderungen wird erfüllen können. Es ist wieder das Prinzip, das in verschiedener Gestalt bereits in mancherlei Verfahren wiedergekehrt ist: die Schädigung der Begleitbakterien, und dadurch relative Anreicherung der Typhusbakterien. Alle diese Verfahren, auch das Bierastsche, haben, wie mehrfach nachgewiesen ist, immer als Nebenwirkung eine gleichzeitige Schädigung der Typhusbakterien. Auf diese Weise wird ein größeres Weiterkommen infolgedessen nicht mehr möglich sein. Das, was uns fehlt, ist ein direktes Anreicherungsverfahren für die Typhusbazillen. Wir müssen danach streben, in dem Gemisch dem Typhusbacillus einen besonders günstigen Nährboden zu bieten, der ihn schneller wachsen läßt, als die Begleitbakterien. Aus diesem Beweggrunde heraus schuf ich den Serumnährboden. Auch er bildet noch nicht das Ideal, das ist mir vollkommen bewußt, aber daß er mehr leistet, als die anderen, haben besonders Schürmanns Zahlen doch klar bewiesen.

Solange uns ein solcher Idealnährboden, wie das Peptonwasser für die Choleravibrionen, beim Typhus fehlt, so lange müssen wir uns damit behelfen, die Diagnose auf alle möglichen anderen Arten zu verbessern. Diesbezügliche Gesichtspunkte drückte ich in meiner mehrfach angezogenen Arbeit über die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose aus, und sie werden auch von Kalthoff unterstützt. Nicht zum mindesten gehört hierher auch die richtige Auswahl der Nährböden. Es war das Verdienst Liebermanns und Acéls, für die Nährböden einen Indikator zu finden, der die bisher bekannten an Güte bei weitem übertrifft. Wie ich schon im Jahre 1915 zeigte, gilt das besonders für den Lackmusfarbstoff. Es ist natürlich nicht von der Hand zu weisen, daß es noch irgendeinen anderen Indikator gibt, der Aehnliches oder vielleicht noch Besseres leistet als das Kongorot. Aus dieser Erwägung



heraus prüfte ich die Angabe Gelhaars über den Bitterschen Nährboden nach. Ich erkannte dabei, wie im vorstehenden begründet ist, daß das Chinablau dem Kongorot stark unterlegen ist. Ich möchte hier auch noch daran erinnern, daß dies nicht verwunderlich ist, wenn man die Wertung, die die Chemie beiden Indikatoren angedeihen läßt, in Betracht zieht. Das Kongorot ist seit langem als außerordentlich scharfer Indikator bekannt und wird in weitestgehendem Maße benützt. Nicht so das Chinablau.

Immerhin besitzt auch das Chinablau für die bakteriologische Technik eine gewisse Bedeutung, wenn man es am richtigen Platze verwertet. Die Eignung für die flüssigen Differentialnährböden kann ich nur durchaus bestätigen. Bitter hat eine Chinablaumolke benutzt an Stelle der Lackmusmolke, wie Gelhaar in seiner Arbeit mitteilt. Ich meinerseits habe, wie ich bereits in meiner Arbeit, Berlin. klin. Wochenschrift. 1917. No. 6, mitteilte, das Chinablau mit großem Vorteil als Ersatz für den Lackmusfarbstoff bei dem Thielschen Diphtherienährboden benutzt. Weiterhin bereite ich jetzt die Milchzucker- und Traubenzuckernutroselösungen nach Barsiekow mit Chinablau, und die Ruhrnährböden nach Barsiekow-Hetsch desgleichen. Hierzu eignet sich das Chinablau nicht so sehr durch die Schärfe seines Umschlages, als vielmehr dadurch, weil die alkalischen Stammlösungen farblos sind. Schwache Säuerung zeigt sich hier durch eine geringe Blaufärbung besser an, als dies der lilla Farbenton der Lackmusfarblösungen vermag.

Die Farblosigkeit der alkalischen Lösungen gestattete mir überdies noch folgenden Vorteil: Es war immer ein wenig schätzenswerter Nebenumstand, daß die verschiedenen Lösungen der Coli- und Ruhrreihen alle gleich aussahen und daher vom Untersucher leicht verwechselt werden konnten. Das läßt sich jetzt leicht durch Färbung der Lösungen mit nichtindikatorartigen Farbstoffen vermeiden. So setze ich jetzt zu 100 ccm der Mannitlösung einige Tropfen einer dünnen Safraninlösung zu, zu der Maltoselösung ebensoviel Chrysoidin. Dadurch erhalten die Nährböden eine ganz schwach rosa, bzw. gelbe Färbung, die genügt, um sie zu unterscheiden. Der spätere Umschlag des Indikators wird durch diese Nachfärbung in keiner Weise beeinträchtigt.

Zusammenfassend läßt sich folgendes feststellen:

In der Arbeit Kalthoffs auf S. 145 des 79. Bandes finden sich einige Behauptungen, die nicht als zutreffend anerkannt werden können; seine Zweifel daran, daß ich berechtigt sei, die Ergebnisse meiner Jenenser Untersuchungen zu verallgemeinern, sind infolgedessen zurückzuweisen.

Vor allem betrachte ich das Jenenser Material als viel homogener, als das Kalthoffs. Untersuchungen, die sich über 6 Jahre verteilen, wie es bei den von Kalthoff verwerteten zutrifft, sind zur Wertbestimmung eines Verfahrens nicht so geeignet, wie die Untersuchungen in einigen Epidemiemonaten.

Die Annahme Kalthoffs, daß die Jenenser Epidemie durch einen besonders schwer nachweisbaren Typhusbacillus verursacht gewesen sei, trifft nicht zu.

Unsere Züchtungsverfahren waren den im Kieler Institut gebräuch-

lichen mindestens gleichwertig, wie ein Vergleich zwischen dem Bitterschen und dem Kongorotnährboden und dem Endo-Nährboden zeigt.

Nach dem Ausfall dieser Untersuchungen ist das Chinablau als Indikator für Stuhlaussaatplatten dem Kongorot stark unterlegen. Es eignet sich gut zum Ersatz der Lackmuslösung in den flüssigen Zuckernährböden.

Die von Kalthoff erbrachten Nachweisziiffern von Typhusbazillen im Stuhle sind, obwohl etwas höher als die meinigen, immer noch vollkommen unbefriedigend.

Daß Kalthoff höhere Gesamtzahlen erhielt, liegt außer an den günstigeren Nebenumständen an der strikten Durchführung der vielseitigen Untersuchung, wie sie von mir dringend gefordert wurde.

Der von ihm versuchte Nachweis, daß die späteren Wochen wesentlich bessere Untersuchungsergebnisse hätten, als die erste, kann nicht als geglückt angesehen werden. Die serologischen Methoden müssen dabei außer Betracht bleiben, da deren Zuverlässigkeit bei längerer Beobachtung ständig zunimmt. Letzteres ist nie bezweifelt worden. (G.C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den diagnostischen Wert des Serumpeptonverfahrens bei der bakteriologischen Diagnose der Cholera.

Von Dr. med. **O. L. E. de Raadt**,

Regierungsarzt in Niederländisch-Ost-Indien, zurzeit in Haag (Holland).

Im Jahre 1910 veröffentlichte Bandi<sup>1)</sup> ein neues Verfahren, um die Choleradiagnose in kurzer Zeit stellen zu können. Das Verfahren gründet sich auf das schon lange vorher bekannte Phänomen der „Bakterienagglutination in statu nascendi“ und besteht aus der einfachen Impfung weniger Oesen der verdächtigen Faeces in Röhrchen mit einer 1-proz. Peptonlösung, welcher agglutinierendes Choleraserum in einer Konzentration zugesetzt ist, wobei nur Agglutination echter Cholera stattfinden kann.

Bocchia<sup>2)</sup> hat die Versuche Bandis mit den von Alexinen befreiten Seris von Kaninchen wiederholt und kommt zu den nachstehenden Schlußfolgerungen:

1) Im Allgemeinen liefert die Methode Bandis gute Resultate, besonders wegen ihrer schnellen Anwendung; sie erfordert aber eine äußerst zarte Technik, ohne welche jeder Versuch erfolglos ist. Man muß nämlich bei der Titrierung der Sera äußerst sorgfältig vorgehen und für eine vollständige Beseitigung der Alexine und eine sorgfältige Aufbewahrung der Sera sorgen. Aus diesen Gründen darf die Methode Bandis in der Praxis nur von sorgfältigen und erfahrenen Bakteriologen angewandt werden.

2) Die guten Resultate der Bandischen Methode können gestört

1) Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 4. S. 60.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. S. 441 u. 442.

Auch dieser Nachteil der Bandischen Methode wird durch mein Verfahren vollkommen ausgeschaltet, weil durch die vorhergehende Anreicherung die Bedingungen für die massenhafte Vermehrung des Choleraerregers unter den günstigsten Verhältnissen geschaffen sind. So erklärt sich ohne Schwierigkeit, warum nach Bocchia — im Gegensatz zu meinen Resultaten — die Bandische Methode sich bei der bakteriologischen Diagnose der Cholera nicht in allen Fällen bewährt und bessere Dienste leisten soll als Mittel zum Nachweis der Choleraerregers im Wasser als in den Faeces.

Obenstehendes zusammenfassend, resultiert hieraus folgendes:

Die von mir im Jahre 1911 beschriebene Methode zur Stellung der bakteriologischen Choleradiagnose ist als ganz zuverlässig zu bezeichnen. Sie läßt, falls die Anreicherung gelingt, niemals im Stich, während die bei der Beurteilung der Reaktion störenden Trübungen des Substrates und Pseudoagglutination gar nicht zu befürchten sind. Aus diesen Gründen ist sie dem Verfahren Bandis vorzuziehen. Ferner ist sie, wenn trockenes Immunserum benutzt wird, technisch so einfach, daß sie nach nur geringer Uebung jedem Arzt vollkommen zugänglich wird und daher in der Praxis sehr zu empfehlen ist, besonders unter den folgenden Umständen:

- 1) Wenn man unter primitiven Verhältnissen zu arbeiten gezwungen ist, wie dies z. B. auf Schiffen oder im Kriege öfters der Fall sein wird.
  - 2) Bei Massenuntersuchungen nach dem Vorkommen von Keimträgern.
  - 3) Wenn die Diagnose in kurzer Zeit gestellt werden muß.
- Februar 1917. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einige neuere Methoden der Diphtheriediagnose.

[Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut der Universität Basel (Vorstand: Prof. Dr. E. Heding er), bakteriologische Abteilung (Vorstand: Priv.-Doz. Dr. J. L. Burckhardt).]

Von Priv.-Doz. Dr. J. L. Burckhardt (Basel) und Augenarzt  
M. L. Enriquez (Spanien).

Die neueren vergleichenden Arbeiten über Diphtheriediagnose, unter denen ich diejenigen von Seligmann und Schmitz hervorheben möchte, ebenso die Zusammenfassungen von Neißer, Neißer und Gins, Schürmann u. a. kommen alle zum Schlusse, daß die praktische Diphtheriediagnose, das heißt die Färbung der Loeffler-Kultur, ihre Pflicht vollkommen erfüllt, indem sie bis auf wenige Prozente, die für die Epidemiologie kaum in Betracht fallen, richtige Resultate ergibt. Auf anderem Wege, nämlich durch Umfrage bei den Aerzten, kamen kürzlich Klinger und Schoch wieder zum selben Ergebnis.

Immerhin werden überall, wo genau nachgeprüft wird, einzelne Fehldiagnosen oder Widersprüche aufgedeckt, und uns selbst zeigte der Aus-

fall von mehreren hundert Virulenzprüfungen in unserer Anstalt, die zum Teil in den Arbeiten von Burckhardt und Tompakow veröffentlicht wurden, daß man sich bei der Untersuchung frischer Rachen-diphtherien kaum irrt, während bei den Befunden von Rekonvaleszenten, Bazillenträgern und Nasenkatarrhen Aenderungen der ersten Diagnose doch etwa einmal vorgenommen werden müssen. Da nun kein einziges der mikroskopischen und kulturellen Merkmale, die wir in der Differentialdiagnose verwenden, in allen Fällen stimmt, werden immer wieder neue Verfahren herangezogen.

In der vorliegenden Arbeit sind einige dieser neuen Methoden unter sich und mit den älteren allgemein gebräuchlichen verglichen. Es ist dies von neuen Methoden hauptsächlich die anaerobe Züchtung in alkalischem Zuckeragar nach Maunu af Heurlin, dann die verlängerte Gramfärbung nach Langer und die besonders von Gins empfohlene Diagnose im Tuschepräparat. Daneben wurden für Tabelle I die allgemein anerkannte Neißer-Färbung und Säuretitration und die in der letzten Zeit etwas zurückgedrängten kulturellen Merkmale, das Wachstum auf Loeffler-Serum, Agar und Zuckerbouillon, endlich natürlich die Virulenzprüfung, herangezogen. Dagegen ist die in der Praxis von uns immer ausgeführte Loeffler-Färbung in der Tabelle weggelassen, da sie neben dem Tuscheverfahren kaum etwas Neues gibt.

Die einzelnen Verfahren und die Art, wie wir sie anwendeten, müssen kurz charakterisiert werden.

#### 1) Anaerobes Wachstum in alkalischem Zuckeragar.

Maunu af Heurlin gab 1914 in einer „vorläufigen Mitteilung“ an, daß in Zuckeragar mit einem genügenden Prozentsatz Normalsodalösung, am besten 100 ccm pro Liter, die Diphtheriebazillen „nur anaerob oder anaerophil“, sämtliche Pseudodiphtheriebazillen „nur extrem aerob oder überhaupt nicht“ wachsen. Er bestätigte diese Tatsache an 53 Diphtheriestämmen und 25 Pseudodiphtheriestämmen, über die wenig nähere Angaben gemacht werden. Gearbeitet wurde anscheinend mit Schüttelkulturen. Eine ausführliche Mitteilung oder eine Nachprüfung konnten wir bis jetzt nicht finden.

Die Prüfung des anaeroben Wachstums der Diphtheriebazillen als differentialdiagnostisches Mittel war schon früher bekannt, aber relativ wenig studiert.

In der ersten Auflage von Kolle-Wassermann (1903) bemerkt Beck, daß der Xerosebacillus streng aerob sei, schreibt aber auch dem Diphtheriebacillus „ein ausgesprochenes Sauerstoffbedürfnis“ zu. In der zweiten Auflage (1913) wiederholen Neißer und Gins letzteren Passus, fügen aber bei, daß der Diphtheriebacillus auch anaerob wächst. Weiter referieren sie die Angaben von Hewlett und Knight (1897), daß das Wachstum des Diphtheriebacillus im Wasserstoff zur Differentialdiagnose gegenüber dem Hoffmannschen Bacillus verwendet werden kann, mit der Bemerkung, daß eine Bestätigung fehle. Ebenfalls 1913 empfiehlt Neißer dagegen auf der Mikrobiologentagung die Kultur in hoher Traubenzuckeragarschicht zur Differentialdiagnose: „... denn wir haben eine Reihe diphtheroider Bazillen aus Auge, Ohr, Urethra untersucht und fast alle aerob gefunden im Gegensatz zum Diphtheriebacillus.“

In Nachprüfungen fand ich diese Angabe zuerst bei Brauweiler (1913) untersucht, in deren Tabellen sie meist, aber nicht immer stimmt. Seligmann (1914) gibt bei seinen sämtlichen Stämmen, unter denen sich 7 „diphtheroide“ und einige „atypische avirulente“ befinden, anaerobes Wachstum an. Schmitz (1914) findet das Wachstum bei echten Diphtheriebazillen überall stark, bei zweifelhaften und diphtheroiden meist schlecht oder zweifelhaft, bei einem zweifelhaften einmal sehr stark. Römer (1914) stützt sich auf die obige unter seiner Leitung ausgeführte Arbeit und empfiehlt das Verfahren unter der Bedingung, daß man frisch ausgekochten Zuckeragar, mindestens 12 cm tief geimpft und darauf noch überschichtet, verwendet und nur ein Wachstum im unteren Drittel des Stichkanals als positiv ansieht. Endlich schreiben Martin und Loiseau in einer soeben (1916) erschienenen Arbeit, daß sie 17 Diphtheriestämme anaerob, 10 Pseudodiphtheriestämme rein aerob fanden.

Wir verwandten den Nährboden nach folgendem Rezept: Agar 10 g, Pepton 10 g, Fleischextrakt 10 g, Kochsalz 5 g, Wasser 1 l wurden gekocht, mit Sodalösung bis zum Lackmusblaupunkt neutralisiert und mit 15 g Traubenzucker versetzt. Dann

gaben wir zu einem beliebigen Volumen 5, 7 $\frac{1}{2}$ , 10, 12 $\frac{1}{2}$  und mehr Prozent N-Sodalösung (praktisch am besten 1 l Zuckeragar + 12,5 ccm N-Sodalösung) und kochten nochmals eine halbe Stunde. Um Veränderungen beim Klären zu vermeiden, ließen wir den Agar erstarren und lösten nachher nur den oberen Teil, der ohne Filtration klar genug war, oder wenn wir das ganze Quantum brauchten, schnitten wir den oberen klaren Teil heraus, verflüssigten ihn im Dampftopf auf dem Filter und gossen erst zuletzt den trüben Teil nach.

Der Nährboden wurde in feine Reagenzgläser (10 mm Durchmesser) ca. 12 cm hoch eingefüllt und zweimal sterilisiert. Ein Rest wurde zum späteren Ueberschichten in einem kleinen Kolben aufbewahrt.

Die Impfung machten wir zuerst in Schüttelkulturen, kamen aber zu keinem klaren Resultat, da hier spärliche Kolonien immer sehr groß, reichliche äußerst klein, zum Teil fast unsichtbar, wuchsen (Näheres unten). Besser ist der Stich bis auf den Boden des Reagenzglases in frisch ausgekochtem und wieder erstarrtem Agar mit nachfolgendem Ueberschichten. Beurteilt wird praktisch nur das Wachstum im unteren Drittel, doch zeigen sich meist auch oben schon Unterschiede.

Das Wachstum im neutralen Zuckeragar wurde im selben 1-proz. Agar ohne Soda-zusatz geprüft.

## 2) Verlängerte Gramfärbung nach Langer.

Langer und Krüger (1916) gaben an, daß die Diphtheriebazillen eine bedeutend geringere Gramfestigkeit zeigen als Pseudodiphtheriebazillen. Sie empfehlen, mit Anilinwasser-Gentianviolett 2 Minuten und mit Lugol 5 Minuten zu färben, dann mit Alkohol absol. 15 Minuten zu entfärben, da die Diphtheriebazillen schon nach 5–10 Minuten entfärbt seien, die Pseudodiphtheriebazillen aber nach 30 Minuten bis 1 Stunde noch nicht. Beobachtet wurden zunächst 10 Stämme von Diphtherie und 5 von Pseudodiphtherie.

Langer gibt in zwei späteren Arbeiten an, daß sich die Methode an über 1000 Diphtherie- und Pseudodiphtheriestämmen bewährte. Er schreibt ihr daher eine „unbedingte Spezifität“ zu, deren Bedeutung darin liege, daß es sich hier nicht um eine Lebensäußerung, sondern um eine spezifische Protoplasmagestaltung handle.

Landau bestätigt die Angaben an einem „vorläufig allerdings nur kleinem Material“, weist aber auf ein von ihm als *Leptothrix* beschriebenes diphtherieähnliches Stäbchen hin, das noch weniger gramfest ist, als der Diphtheriebacillus.

Zwei weitere nach Abschluß unserer Arbeit erschienene Nachprüfungen von Schmitz und Jacobitz schränken den Wert der Langer-Färbung stark ein. Jacobitz fand z. B. in 2 Fällen von typischer Diphtherie grampositive und gramnegative Stäbchen nebeneinander, ebenso Entfärbung bei einem *Leptothrix*-ähnlichen Stäbchen. Schmitz bestätigt an mehreren Stämmen den markanten Unterschied zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen, findet aber die Diphtheriebazillen nicht immer vollständig gramnegativ (oft nur durch das Fuchsin überfärbt); außerdem nehmen zwei sonst etwas atypische sichere Diphtheriestämme auch hier eine Mittelstellung ein, was eher für die Unitätstheorie spricht, für welche Schmitz schon früher eintrat, als für die strenge Scheidung, welche Langer annimmt.

Wir selbst färbten genau nach den von Langer und Krüger angegebenen Zeiten, Anilinwasser-Gentianviolett 2 Minuten, Gram 5 Minuten (die Resultate waren mit unserem Anilinwasser-Gentianviolett und einem zur Kontrolle vom Spitalapotheker bezogenen genau gleich). Die Entfärbung versuchten wir zunächst mit Alkohol absol. (99,5-proz.), dann mit Spiritus rectificatus (95-proz.) der schweizerischen Pharmakopöe, konnten aber dadurch die Diphtheriebazillen in 15–20 Minuten kaum entfärben. Mit dem gewöhnlichen durch Methylalkohol und Aceton denaturierten 92,5-proz. Spiritus gelang dann die Methode mit den unten angegebenen Ausnahmen besser, und die Resultate der Tabelle I entsprechen einer Entfärbung mit diesem Spiritus während 15 Minuten.

3) Die Prüfung auf Säurebildung ist aus den oben zitierten Arbeiten bekannt. Wir titrierten mit  $\frac{n}{10}$  NaOH und Phenolphthalein in Röhrchen von 5 ccm 2-proz. Traubenzuckerbouillon am 2., 3. und öfter noch am 4.–5. Tage. Die höchsten Werte, die fast immer dem 3. Tage entsprachen, wurden in Tabelle I notiert in Kubikzentimetern  $\frac{n}{10}$  NaOH, nachdem der Säuregrad von sterilen Kontrollröhrchen (meist 0,3 bis 0,4 ccm gegenüber Phenolphthalein) abgezogen war.

4) Die Virulenz wurde durch intrakutane Impfung bestimmt, da diese kleinere Giftmengen anzeigt als der alte Versuch, und war immer deutlich positiv oder negativ (Technik s. Burckhardt l. c.).

5) In den Rubriken Polkörnchenfärbung und Tuschepräparat ist der

Nummer	Bezeichnung	Herkunft	Virulenz	Tuschepräparat	Lagerung	Polkörnchen	Wachstum Loeffler-Serum
1	977/15 H.	Augen- diphtheritis Rachen- diphtheritis dgl. „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	+	mittellang, oft Keulen und Spindeln, selten Knöpfe	unregelmäßig dgl. „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	8 h regelmäßig	gut
2	803/15 J.		+	mittellang, ziemlich regelmäßig		8 h spärlich 28 h regelmäßig	„
3	917/16 St.		+	mittellang, ziemlich viele Keulen und Knöpfe		8 h spärlich 14 h regelmäßig	„
4	913/16 F.		+	mittellang, schlank, oft Keulen und Knöpfe		8 h reichlich	„
5	105/16 D.		+	kurz bis mittellang, ziemlich regelmäßig, oft Keulen, selten Knöpfe		8 h fast keine 12 h sehr regelmäßig	„
6	990/16 H.		+	mittellang, ziemlich unregelmäßig, viele Keulen und Knöpfe		8 h fast keine 12 h sehr regelmäßig	„
7	989/16 Sch.		+	mittellang, ziemlich unregelmäßig, viele Keulen und Knöpfe		8 h zieml. regelmäßig	„
8	765/16 R.		+	verschieden lang, unregelmäßig, oft Keulen, selten Spindeln und Knöpfe		8 h sehr regelmäßig	„
9	1242/16 D.		+	mittellang, unregelmäßig oft Keulen, selten Spindeln und Knöpfe		8 h zieml. spärlich 14 h „ regelmäßig	„
10	1241/16 B.		+	mittellang, oft Keulen, ziemlich selten Spindeln und Knöpfe		8 h spärlich 12 h sehr regelmäßig	„
11	982/16 M.		+	mittellang, viele Keulen, Spindeln, Knöpfe		8 h regelmäßig	„
12	1252/16 Sp.		+	mittellang, viele Keulen, Spindeln, Knöpfe		8 h viele	„
13	1282/16 M.		+	mittellang, viele Keulen, Spindeln, Knöpfe		8 h regelmäßig	„
14	756/16 G.		+	verschieden lang, sehr unregelmäßig, oft Keulen und Knöpfe, selten Spindeln		8 h wenig 14 h zieml. regelm.	„
15	1375/16 S.		+	mittellang, oft Keulen und Knöpfe		8 h regelmäßig	„
16	1398/16 C.		+	mittellang bis lang, oft Keulen, Spindeln und Knöpfe		8 h regelmäßig	„
17	1334/16 R.		+	verschieden lang, unregelmäßig oft Keulen und Spindeln, selten Knöpfe		8 h spärlich, später regelmäßig	„
18	45/17 M. (a)	Nasen- diphtheritis dgl. chron. Nasen- katarrh Ozaena „ Sputum (Tbc.) Sputum (Bronchitis) Ozaena	+	mittellang, oft Keulen und Spindeln, selten Knöpfe	„ „ „ „ „ „ „ „ „ „	8 h regelmäßig	„
19	45/17 M. (b)		—	lang, oft doppellang, sehr unregelmäßig, oft Keulen und Knöpfe		8 h regelmäßig	„
20	2220/16 M.		—	mittellang bis lang, nicht sehr schlank, oft Keulen und Knöpfe		8 h regelmäßig	„
21	747/16 F.		—	mittellang bis sehr lang, schlank aber viele Keulen und Knöpfe, kurze Fäden u. Verzweigungen		8 h spärlich 14 h regelmäßig	„
22	813/16 St.		—	mittellang bis sehr lang, schlank aber viele Keulen und Knöpfe, kurze Fäden u. Verzweigungen		8 h ziemlich viele	„
23	1278/16 B.		—	mittellang bis lang, oft Keulen und Knöpfe		8 h regelmäßig	„
24	1067/16 B.		—	mittellang bis lang, viele Keulen und Knöpfe, selten ein kurzer Faden		8 h regelmäßig	„
25	1411/16 W.		—	mittellang bis lang, oft Keulen und Knöpfe, selten Spindeln		8 h zieml. spärlich 14 h ziemlich viele	„

werden durch Trübungen des Substrates, bedingt durch Keime der Darmflora oder direkt durch das Material der Faecesemulsion, weiter durch das Sichniedersetzen dieses Materials bei schleimigen Faeces, welche zuweilen Klümpchen agglutinierten Keime vortäuschen können, was besonders bei reiswasserähnlichen Faeces der Fall ist.

3) Das Verfahren Bandis bewährt sich nicht in allen Fällen bei der bakteriologischen Diagnose der Cholera. Es leistet bessere Dienste als Mittel zum Nachweis der Choleraerreger im Wasser als in Faeces.

Ganz unabhängig von Bandi (die betreffenden Arbeiten Bandis und Bocchias kamen mir erst viel später durch die 2. Aufl. des Handb. d. pathogen. Mikroorganism. von Kolle und Wassermann zur Kenntnis) veröffentlichte ich kurze Zeit nach ihm, nämlich im Jahre 1911, in einer Arbeit: „Die bakteriologische Choleradiagnose mittels eines kulturell-biologischen Verfahrens“<sup>1)</sup> meine Untersuchungen über eine vereinfachte Choleradiagnose, die ich ebenfalls auf das oben genannte Phänomen der Bakterienagglutination in statu nascendi stützte, und die sich technisch von der Bandischen Methode hauptsächlich unterscheidet durch den Umstand, daß bei meinem Verfahren die Impfung in das Serumpeptongemisch nicht, wie bei der Bandischen Methode, direkt ausgeht von den verdächtigen Faeces- (bzw. Wasser-)material, sondern von der von diesem Material erst in der üblichen Weise angelegten Anreicherungsflüssigkeit. Der Grund für meine Untersuchungen war der, daß gerade in Niederländisch-Ost-Indien, wo, infolge von Mangel an Bakteriologen und Laboratorien, die bakteriologische Choleradiagnose bis dahin nur in wenigen Orten möglich war, ein außerordentlich großes Bedürfnis besteht nach einer Vereinfachung dieser Diagnose, wodurch jeder Arzt an Ort und Stelle in der Lage wäre, mit sehr einfachen Hilfsmitteln die Diagnose mit Sicherheit stellen zu können.

Meine Untersuchungen führten mich damals unter anderem zu den folgenden Schlüssen:

1) Das Verfahren ist so einfach, daß es nur wenig Zeit braucht und sogar Ungeübten in die Hände gegeben werden kann.

2) Die im Serumpeptongemisch eventuell stattfindende Agglutination kommt immer scharf zum Vorschein und ist also ohne die geringste Schwierigkeit wahrnehmbar.

3) Das Verfahren ist ganz sicher; falls die Anreicherung nicht fehlschlägt, läßt die Methode nie im Stich, selbst nicht in Fällen, wo im Laboratoriumexperimente das Arbeitsmaterial (Faeces bzw. Wasser) mit den minimalsten Dosen von Choleravirus infiziert wurde.

Wie aus dem Obigen hervorgeht, besteht also ein gewisser Widerspruch zwischen den Resultaten Bocchias und den meinigen; es sei mir daher gestattet, zur näheren Erklärung dieses Widerspruches folgende Bemerkungen zu machen:

Ad 1. Die Einfachheit der Methode. Wenn man, wie ich (und dies wird in der Praxis wohl Regel sein), nicht mit frischem, sondern mit trockenem Immunsorum arbeitet, so ist eine bakterizide Wirkung des Immunsorums selbstverständlich nicht zu befürchten, ja sogar gänzlich ausgeschlossen, und zwar um so mehr in den starken Serumverdünnungen des Nährbodens, von dem in casu die Rede ist. Weiter ist es meines Erachtens vollkommen unbegreiflich, daß eine „äußerst sorgfältige Titrierung der Sera“ eine Hauptbedingung sein sollte für das

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. S. 410.

Gelingen der Reaktion; es ist in diesem Falle doch ganz gleich, ob die Serumverdünnung z. B.  $\frac{1}{1000}$ ,  $\frac{1}{8000}$  oder  $\frac{1}{6000}$  ist, weil bei diesen Verdünnungen nur Agglutination echter Cholera stattfinden kann. Man dürfte also, was diesen Punkt anbelangt, eher sagen: Es kommt auf eine sorgfältige Titrierung des Serums bei der Technik der Bandischen Methode gar nicht an, falls die Konzentration des Serums in dem Nährboden nur eine solche ist, bei welcher nicht-spezifische Agglutination ausgeschlossen ist und die höchste Titergrenze des Serums nicht überschritten wird. Ohne weiteres ist klar, daß für die Ansicht Bocchias, „daß die Methode Bandis in der Praxis nur von sorgfältigen und erfahrenen Bakteriologen angewandt werden darf“, kaum stichhaltige Gründe angeführt werden können.

Ad 2. Die oft schwierige Beurteilung der Reaktion entweder infolge von Trübungen des Substrates durch Keime der Darmflora, bzw. durch das Material der Faecesemulsion oder infolge störender Pseudoagglutination durch Faeces- (bzw. Schleim)partikelchen.

Zweifelsohne ist dies ein großer Nachteil der Bandischen Methode, welcher jedoch nur bedingt wird durch die direkte Impfung des Faecesmaterials in das Serumpeptongemisch. Wenn man, wie ich vorgeschlagen habe, der spezifischen Reaktion die übliche Peptonanreicherung vorhergehen läßt, so gestaltet sich die Sache ganz anders, da sich in diesem Falle Faeces und Schleimpartikelchen vollständig auf den Boden der Anreicherung niedergeschlagen haben. So werden daher bei der Impfung nur Bakterien und, falls Cholera vorhanden ist, unter diesen Bakterien sogar eine überwiegende Zahl von Cholera-vibrien, in das Serumpeptongemisch übertragen. Deutlich ist, daß dieser Nachteil der Bandischen Methode also vollständig beseitigt wird, wenn man in der von mir beschriebenen Weise vorgeht.

Ad 3) Das Verfahren Bandis läßt bei der Diagnosestellung der Cholera zuweilen im Stich. Besonders soll dies der Fall sein, wenn der Choleraerreger sich in den Faeces vorfindet.

Die Erklärung dieses Umstandes kann meines Erachtens nur in der folgenden Tatsache liegen. Durch die Wirkung des agglutinierenden Serums büßt der Choleravibrio seine lebhafte Beweglichkeit größtenteils ein, und bleibt infolgedessen auf dem Boden der Röhrchen liegen. Im Gegensatz zu der Ansicht Bandis<sup>1)</sup>, daß das Immunserum einen „aktiven Anreiz“ auf die Wachstumsvorgänge der Bakterien ausüben soll, besteht also in casu ganz bestimmt eine hemmende Wirkung des Serums auf dieses Wachstum, weil der Choleravibrio die Fähigkeit, sich, infolge seines Sauerstoffbedürfnisses, in den oberflächlichen Flüssigkeitsschichten des Nährbodens anzusammeln, verloren hat. Er lebt also im Serumpeptongemisch unter viel ungünstigeren Bedingungen als in Peptonlösung ohne Serumzusatz. Um so mehr wird sich dieser schädigende Einfluß des Serums geltend machen, wenn der Choleraerreger im menschlichen Körper gegenüber den anderen Darmbakterien ein kümmerliches Dasein führt und deshalb in den Faeces nur sporadisch vertreten ist. Unter diesem letztgenannten Umstande ist tatsächlich die Möglichkeit geschaffen, daß das Wachstum des Vibrio im Serumpeptongemisch ein so geringes ist, daß die Reaktion gar nicht zum Ausdruck kommt.

1) Zitiert nach Bocchia l. c.



belle I.

Wachstum Agar	Wachstum Zuckerbouillon	Säure- bil- dung	Tiefer Stich, Zuckeragar	Zuckeragar + 5 Proz. Soda	Zuckeragar + 7,5 Proz. Soda	Zuckeragar + 10 Proz. Soda	Zuckeragar + 12,5 Proz. Soda	Gramfärbung nach Langer
größ. als 1 mm, zieml. undurchscheinend	körniger Satz, klar	0,5	++	++	++	++	++	meist —, seltene kurze kurze Stäbchen +
ca 1 mm, durch- scheinend	„ „ „	1,0	++	++	++	++	++	alle —, fast keine De- generationsformen
ca 1 mm durch- scheinend	„ „ „	0,5	++	++	++	++	++	meist —, viele dicke Formen +
ca 1 mm, ziemlich durchscheinend	„ „ „	0,45	++	++	++	++	++	meist —, selten Dege- nerationsformen +
ca 1 mm, durch- scheinend	körniger Satz u. fein- körnige Trübung	1,3	+++	+++	+++	+++	+++	meist —, selten kurze Stäbchen +
größer als 1 mm, durchscheinend	starker feinkörniger Satz, klar	0,5	++	++	++	++	++	meist —, zieml. viele De- generationsformen +
ca 1 mm, ziemlich durchscheinend	körniger Satz, klar	0,3	++	++	++	++	++	meist +, sehr unregelm. in Länge und Dicke
ca 1 mm, durch- scheinend	körniger Satz und leichte Trübung	1,0	++	++	++	++	++	meist —, viele Dege- nerationsformen +
sehr klein, ziemlich durchscheinend	körniger Satz, klar	0,5	++	++	++	++	++	meist —, oft kurze dicke Stäbchen +
klein, durchschei- nend	dicker Satz und dif- fuse Trübung	1,5	+++	+++	+++	+++	+++	meist —, selten Dege- nerationsformen +
ca 1 mm, ziemlich undurchscheinend	dicker Satz und dif- fuse Trübung	1,5	++	++	++	++	++	meist —, selten Dege- nerationsformen +
klein, durchschein. u. große körn. Kolon.	Satz, körnige Trü- bung und Haut	1,5	+++	+++	+++	+++	+++	meist —, ziemlich viele große Keulen +
sehr klein, durch- scheinend	grobkörniger Satz, klar	0,5	++	++	++	++	++	meist —, zieml. viele De- generationsformen +
ca 1 mm, durch- scheinend	feinkörnig. Satz, teils klar, teils getrübt	0,9	++	++	++	++	++	meist —, zieml. viele De- generationsformen +
ca 1 mm, durch- scheinend	feinkörniger Satz und Trübung	1,2	++	++	++	++	++	fast alle —
ca 1 mm, durch- scheinend	feinkörniger Satz, klar	0,8	++	++	++	++	++	fast alle +, kurz und dick
1–2 mm, durch- scheinend	Satz und starke Trü- bung	2,0	++	++	++	++	++	meist —, zieml. viele De- generationsformen ±
ca 1 mm, durch- scheinend	feinkörniger Satz, fast klar	0,3	++	++	++	++	++	fast alle —
ca 1 mm, ziemlich undurchscheinend	feinkörniger Satz, fast klar	0,6	+	+	+	—	—	fast alle —, zieml. viele Degenerationsform. +
1–2 mm, ziemlich undurchscheinend	grobkörniger Satz, körnige Trübung	0,4	+	+	—	—	—	fast alle —, spärlich dicke Degenerationsform. +
ca 1 mm, ziemlich durchscheinend	Satz, feinkörnige Trübung, Haut	0,9	++	—	—	—	—	alle —
2–3 mm gelappt, un- durchscheinend	Satz, feinkörnige Trübung u. Haut	0,6	+	+	++	+	—	fast alle —, einzelne dicke Keulen +
ø	starker Satz u. kör- nige Trübung	1,0	++	+	—	—	—	alle —
ca 1 mm, durch- scheinend	Satz, starke körnige Trübung, Haut	0,85	++	++	++	++	—	fast alle —, einige dicke Keulen +
1–2 mm, undurch- sichtig, feucht	grobkörniger Satz, körnig getrübt	1,0	—	—	—	—	—	meist —, zieml. viele De- generationsformen +

2\*

Nummer	Bezeichnung	Herkunft	Virulenz	Tuschepräparat	Lagerung	Polkörnchen	Wachstum auf Loeffler-Serum
26	501/17 Sch.	Rachen (Meningitis?)	—	kurz, ziemlich plump, sehr regelmäßig, selten Spindeln	oft parallel	10 h fast keine	schlecht
27	541/17 B.	Conjunctivitis subacuta	—	mittellang bis kurz, schlank, meist gebogen, keine deutlichen Keulen und Knöpfe	unregelmäßig	24 h „ „ „ 8 h fast regelmäßig	„
28	Wirth	Conjunctivitis	—	kurz, plump, sehr regelmäßig, selten Spindeln	oft parallel	10, 14 h fast keine	sehr langsam
29	Wieser	dgl.	—	kurz, ziemlich regelmäßig, oft Spindeln	dgl.	24 h spärlich, sehr unregelmäßig 10 h selten	„
30	562/17 F.	Conjunctivitis acuta	—	mittellang bis kurz, ziemlich regelmäßig, oft Spindeln, manchmal Keulen	„	8 h ziemlich viele	3—4
31	16/17 Pf. (Gr.)	dgl.	—	ziemlich kurz, plump, selten keulenförmig	„	10 h selten	gut
32	16/17 Pf. (Kl.)	dgl.	—	8 h Wachstum ungenügend, 10 h sehr kurz, fein, regelmäßig	„	10 h reichlich, auch im Innern	schlecht
33	Handschu.	Conjunctivitis	—	kurz bis mittellang, ziemlich regelmäßig, selten Spindeln und Knöpfe	„	10 h keine	ziemlich schlecht
34	Kaufmann	dgl.	—	ziemlich kurz, plump, oft Spindeln, selten Keulen	„	10 h wenig	schlecht
35	31/17 P.	Conjunctivitis acuta	—	sehr kurz, regelmäßig	„	10 h selten	„
36	Richard	Conjunctivitis	—	sehr kurz, ziemlich dünn, ziemlich regelmäßig aber oft Keulen und Spindeln	„	10 h selten, unregelmäßig	„
37	65/17 V.	Conjunctivitis acuta	—	sehr kurz, ziemlich dünn, oft Keulen und Spindeln	„	10 h selten	„
38	245/17 K.	dgl.	—	sehr kurz, ziemlich plump, regelmäßig, Keulen und Spindeln selten	„	10 h fast keine	„
39	4/17 K.	Urin	—	sehr klein, oft fast oval, ziemlich viele Keulen und Hanteln	„	10 h sehr selten, unregelmäßig	„
40	48/17 W.	Vagina	—	sehr klein, ziemlich regelmäßig, oft ein Ende dicker	„	10 h selten, unregelmäßig	„

Befund an Reinkulturen wiedergegeben und zwar bei sämtlichen diphtherieähnlichen Stämmen sofort nach der Isolierung; einige Diphtheriestämme dagegen waren bis zu 15 Monate alt. Der Befund der Originalplatte nach 8—14 Stunden konnte schon aus dem Grunde nicht berücksichtigt werden, da die xeroseartigen Stämme dort meist erst nach 24—48 Stunden deutlich wuchsen.

6) In Rubrik Wachstum auf Loeffler-Serum wurden nicht die feinen Differenzen in Farbe, Falten- und Lappenbildung angegeben, die früher hier und da beschrieben wurden, und die auch bei echten Diphtheriestämmen im Mutationsversuche bekanntlich wechseln, sondern es ist nur notiert, ob ein Stamm ungefähr in der Art der Diphtheriebazillen oder deutlich stärker resp. schwächer wächst. Das Wachstum auf Agar wurde nach 3 Tagen Brutschrank beschrieben und nahm später anscheinend nicht mehr zu.

Die in Tabelle I zusammengestellten Stämme können wir in drei große, recht deutlich umschriebene, Gruppen einteilen. Wenn wir zunächst einmal die allgemein gebräuchlichen „Kardinalsymptome“, Virulenz, Form, Lagerung, Polkörnchenbildung, Säurebildung und anaërobes Wachstum, berücksichtigen, so erweisen sich die ersten 18 als typische Diphtheriebazillen. Sie stammen auch aus klinischen Diphtherien, meist des Rachens. Die letzten Stämme, No. 26—40, möchte ich vorläufig der Einfachheit halber unter dem Sammelnamen „Pseudodiphtherie“ an-

Wachstum Agar	Wachstum Zuckerbouillon	Säure- bil- dung	Tiefer Stich, Zuckeragar	Zuckeragar + 5 Proz. Soda	Zuckeragar + 7,5 Proz. Soda	Zuckeragar + 10 Proz. Soda	Zuckeragar + 12,5 Proz. Soda	Gramfärbung nach Langer
klein, ziemlich un- durchscheinend	fast diffus getrübt, Spur körnig. Satz	0,15	++	++	+	—	—	meist + und ±
klein, ziemlich un- durchsichtig	fast diffus getrübt, Spur körnig. Satz	0,15	—	—	—	—	—	alle —
1–2 mm, undurch- sichtig feucht	grobkörniger Satz, körnig getrübt	1,0	—	—	—	—	—	fast alle +, selten ±
sehr klein, durch- scheinend	fast diffus getrübt, Spur Satz u. Haut	0,0	++	++	—	—	—	meist ± und +
ca. 3 mm, dick, feucht	Satz und starke dif- fuse Trübung	0,1	+	+	—	—	—	alle —
ca. 1 mm, zieml. und. ca. 4 mm, dick, feucht. Kol.	grobkörn. Satz, körn. getrübt u. stark. Haut	0,4	—	—	—	—	—	meist + und ±
kaum sichtbar	feinkörniger Satz	0,1	—	—	—	—	—	meist — und ±, sel- ten +
sehr klein, ziemlich undurchscheinend	grobkörniger Satz, körnig getrübt	0,95	—	—	—	—	—	meist +
ca. 2 mm, dick, feucht	fast diffus getrübt, Spur Satz u. Haut	–0,1	—	—	—	—	—	fast alle —
sehr klein, durch- scheinend	feinkörniger Satz, klar	–0,2	—	—	—	—	—	meist + und ±
sehr klein, ziemlich undurchscheinend	feinkörniger Satz, klar	0,15	—	—	—	—	—	meist + und ±
sehr klein, ziemlich undurchscheinend	feinkörniger Satz, fast klar	0,65	—	—	—	—	—	meist + und ±, ziem- lich viele —
sehr klein, ziemlich undurchscheinend	feinkörniger Satz, klar	0,2	—	—	—	—	—	alle +
sehr klein, durch- scheinend	feinkörniger Satz, klar	0,0	—	—	—	—	—	meist + und ±
ca. 2 mm, dick, feucht	feinkörniger Satz, feinkörn. Trübung	0,75	+	—	—	—	—	alle —

führen. (Ob wir sie dann eher Xerose oder atypische avirulente Diphtherie oder diphtheroide Stäbchen nennen, wird unten noch kurz besprochen.) Sie kommen meist aus Conjunctivitiden, etwa zur Hälfte aus Ophthalmoblennorrhöe, die wir auf Gonokokken zu untersuchen hatten, zur Hälfte aus leichten subakuten bis chronischen Augenkatarren, die nur für unsere Zwecke untersucht wurden, dann je 1 Stamm aus dem Rachen (fragliche Genickstarre), der Vagina und dem Urin (Diphtheriebazillen wurden nie daneben gefunden; auch handelte es sich klinisch nicht um diphtherieverdächtige Erkrankungen). Die dazwischen liegenden 6 avirulenten Stämme 19–24 wollen wir zunächst als avirulente typische Diphtheriebazillen auffassen, da sie Form und Lagerung der Diphtheriebazillen, Polkörnchenfärbung nach 8 Stunden, deutliche Säurebildung und anaërobes Wachstum im gewöhnlichen Zuckeragar zeigen. Ihnen gleicht Stamm 25 als „fast typischer avirulenter Diphtheriebacillus“ nach dem Schema von Römer, da ihm nur das anaërobe Wachstum fehlt. Einer davon wurde aus einer Nasendiphtherie (neben dem virulenten Stamm 19) zufällig isoliert, einer stammt aus einem chronischen sehr verdächtigen Nasenkatarrh, der anscheinend auf eine Rachen-

diphtherie folgte, zwei von klinisch typischer Ozaena (ebenso Stamm 25); zwei weitere wurden in Sputen gefunden, die zur Tuberkelbazillenuntersuchung kamen.

Wir nennen also einstweilen, ohne für die Systematik irgendetwas zu präjudizieren, nach rein praktischem Gesichtspunkte:

- |  |              |
|--|--------------|
| Gruppe I echte Diphtheriebazillen,           | Stamm 1—18   |
| „ II typische avirulente Diphtheriebazillen, | „ 19—24 (25) |
| „ III Pseudodiphtheriebazillen,              | „ 26—40      |

Von unseren Erkennungsmethoden müssen wir nun verlangen, daß sie Gruppe I und III voneinander unterscheiden. Daß sie, abgesehen von der Virulenzprüfung, eine Differenzierung von Gruppe I und II ergeben, dürfen wir a priori nicht erwarten. Wir betrachten also zunächst von jeder der angewandten Methoden, wie sie sich gegenüber den 3 Gruppen verhält, und ob sie innerhalb derselben einheitliche Ergebnisse zeigt.

1) Die Virulenzprüfung war bei den ersten 18 Stämmen deutlich positiv (bei Kontrolltieren mit gleichzeitiger Serumeinspritzung negativ), bei den anderen völlig negativ, so daß sie zu keinen Bemerkungen Anlaß gibt und Gruppe I von II und III deutlich trennt.

2) Das Tuschepräparat gibt in Gruppe I nicht ganz gleichmäßige Verhältnisse, läßt aber schon mit wenig Übung einen deutlichen Längenunterschied gegenüber den meisten Stämmen der Gruppe III erkennen. Während bei diesen meist gleichmäßig kurze, zum Teil sogar fast ovale, Stäbchen vorkommen, finden wir bei den echten Diphtheriebazillen im Mittel eine bedeutend längere Form, daneben allerdings auch kürzere und längere Stäbchen. Hauptsächlich zeichnet sich die Gruppe I aber durch viel größeren Formenreichtum, regelmäßige und unregelmäßige Biegung der Stäbchen, Keulen- und Spindelformen und zentrale plötzliche Verdickungen aus. Diese Ginschen „Knöpfe“, die anscheinend dort entstehen, wo ein Stäbchen in Teilung begriffen ist, sind besonders charakteristisch, obgleich im allgemeinen nicht allzu häufig. Auch wir können die Angabe von Gins bestätigen, daß sie in Gruppe III kaum oder nicht vorkommen. Hier ist das Bild überhaupt viel regelmäßiger, von der kurzen ovalen Form gehen Uebergänge zu Spindeln und regelmäßigen, meist plumpen Stäbchen hin. Was wir hier etwa als Keule notierten, gleicht selten der ausgesprochenen Keulenform der echten Diphtheriebazillen, sondern ist eine leichte Verdickung des einen Endes gegenüber dem anderen (das, was im Loeffler-Blaupräparat, besonders bei aneinanderliegenden Stäbchen, als Keilform imponiert).

Gruppe II gleicht in der Unregelmäßigkeit vollständig der Gruppe I, indem Keulen, Knöpfe und unregelmäßig dicke gebogene Stäbchen mindestens ebenso häufig sind. Bei genauer Beobachtung fällt aber auf, daß die Stäbchen oft etwas länger und eher noch schlanker sind als bei den echten Diphtheriebazillen; auch findet man häufiger kurze Fäden in der Länge von 3 bis höchstens 4 Stäbchen mit unregelmäßigen Verdickungen, endlich auch etwa einmal Verzweigungen, wie wir sie bei jungen Diphtheriekulturen nie sahen.

3) Die Lagerung läßt sich leider im Tuschepräparat lange nicht so gut beobachten wie im gefärbten Präparat, ganz besonders natürlich im Klatschpräparat, aber auch in den mit der Oese hergestellten Aufschwemmungen. Unsere Notizen darüber folgen also dem Neißer- und Loeffler-Präparat, und wir finden in Gruppe I und II die bekannte unregelmäßige Lagerung, in Gruppe III sehr häufig die parallel gelagerten Stäbchen und Doppelstäbchen. Dieser Unterschied ist natürlich nicht durchgehend bei jedem kleineren oder größeren Häufchen, gehört aber trotzdem zu den markantesten Merkmalen. Fadenbildung fällt bei Gruppe II im gefärbten Präparate sozusagen nie auf; was im Tuschepräparate als kurzer Faden imponiert, erscheint bei Neißer- oder Loeffler-Färbung als Kette von 2—3 durch Polkörnchen getrennten Stäbchen, wie sie, oft zickzackförmig gebogen, auch bei Gruppe I vorkommt.

4) Die Neißer-Färbung gibt in Gruppe I meist das erwartete Resultat, nämlich regelmäßige Polkörnchen nach 8, spätestens 14 Stunden. Daß dies nicht absolut immer zutrifft, und besonders daß sich öfter auch Körnchen im Innern der Stäbchen finden (was in der Tabelle nicht notiert ist), läßt sich wohl darauf zurückführen, daß die Stämme zum Teil längere Zeit in der Sammlung standen.

In Gruppe II ist die Polkörnchenbildung zur selben Zeit fast noch regelmäßiger, und die Körnchen zeigen genau die mittlere Größe derjenigen bei echten Diphtheriebazillen. Dies wurde an mehrfach überimpften Stämmen auch noch bei Abschluß der

Arbeit (ca. 9 Monate nach der Isolierung) mit derselben Regelmäßigkeit beobachtet, während einige der Diphtheriestämme seither noch stärker degeneriert sind und weniger und unregelmäßigere Polkörnchen erkennen lassen.

Gruppe III dagegen zeigt in jungen Kulturen bis zu 24 Stunden fast keine Polkörnchen. Die häufig später auftretenden, oft sehr zahlreichen und unregelmäßigen Körnchen im Innern und an den Enden der Stäbchen haben wir in Tabelle I nicht notiert. Einige Stämme machen hier aber Ausnahmen, und zwar sind es sonst typische, sehr langsam wachsende Xerosestämmen (No. 27, 30, 32).

5) Das Wachstum auf Loeffler-Serum gibt uns einen recht typischen Unterschied zwischen Gruppe I und II einerseits und den meisten Stämmen der Gruppe III andererseits, da die ersten nach 24 Stunden deutlich sichtbare erhabene Kolonien bilden und mit der Zeit in einzelstehenden Kolonien auf ca. 2 mm Durchmesser anwachsen, während die anderen nach 24 Stunden kaum sichtbar (in der Originalplatte meist nicht sichtbar) sind und auch später sehr klein bleiben. Immerhin ist dieser Unterschied nicht durchgreifend, da von den 15 Stämmen der Gruppe III einer in der Art der Diphtherie, 2 aber noch bedeutend stärker als diese wachsen.

6) Das Wachstum auf Agar zeigt wenig Charakteristisches. Die Kolonien der Gruppe I sind meist ca. 1 mm groß und sind bei makroskopischer und mikroskopischer Betrachtung ziemlich durchscheinend. Doch erreichen einige Stämme diese Größe nicht; sie sind in diesem Falle als „klein“ oder „sehr klein“ bezeichnet. Einzelne Stämme bilden etwas größere, weniger durchscheinende Kolonien. Die Stämme der Gruppe II gleichen teils den ca. 1 mm großen, teils den größeren vollständig. In Gruppe III sind die Unterschiede, wie beim Loeffler-Serum, etwas größer. Die meisten Stämme bleiben äußerst klein, sind aber ziemlich erhaben, also undurchsichtig, einige Stämme, und zwar nicht immer diejenigen, die auf Loeffler-Serum üppiges Wachstum zeigen, zeichnen sich durch bedeutend größere, ziemlich dicke und feuchte Kolonien aus.

7) Das Wachstum in Zuckerbouillon gibt keine durchgreifenden Differenzen; auch ist zum voraus zu bemerken, daß verschiedene Proben beim selben Stamme nicht immer gleich ausfallen. Die meisten Stämme der Gruppe I bilden einen feineren und gröberen Bodensatz; dabei bleibt die Bouillon teils klar, teils ist sie durch feine Körnchen getrübt, wie sie auch oft an der Glaswand hängen.

Spontane Hautbildung ist selten (bekanntlich kann man aber bei den Diphtheriebazillen wie beim Tuberkelbacillus eine Hautbildung meist durch vorsichtige oberflächliche Impfung eines von vornherein schwimmenden Partikelchens erreichen).

Einige Stämme der Gruppe III, aber lange nicht die Mehrzahl, zeichnen sich durch fast diffuse Trübung der Bouillon aus. Die anderen und ebenso die Gruppe II lassen keine Unterschiede gegenüber den echten Diphtheriebazillen erkennen. Höchstens wachsen die xeroseartigen Stämme auch hier langsamer und etwas schwächer als der Diphtheriebacillus, was auf Tabelle I nicht notiert ist.

8) Die Säurebildung in Zuckerbouillon ist bei Gruppe I überall ausgesprochen mit Ausnahme von Stamm 18, der nur  $0,2 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ NaOH}$  bildet (er wurde sofort nach seiner sicheren Isolierung geprüft); bei den anderen (zum Teil älteren) Stämmen schwankt sie zwischen ca. 0,5 und 1,5 (bei einem älteren Stamm 0,3, bei einem frisch geprüften sogar 2,0).

Gruppe II zeigt zwar keine extrem hohen Werte, aber doch deutliche Säurebildung mit Zahlen von 0,4—1,0.

In Gruppe III dagegen ist die Säurebildung meist äußerst schwach (0—0,2) oder sogar negativ, indem Alkalibildung überwiegt, bei 4 von 15 Stämmen aber so hoch wie bei den echten Diphtheriebazillen, nämlich 0,6—1,0.

Wie schon oben bemerkt, wurde übrigens die Säure oft mehrfach titriert, und es ergaben sich bei den echten Diphtheriebazillen recht große Differenzen, meist, aber nicht immer, eine Abnahme bei älteren Stämmen. Kurz zusammengefaßt, ist also die Säurebildung ein Merkmal, welches Gruppe I und II von vielen, aber lange nicht von allen Stämmen der Gruppe III trennt.

9) Das anaerobe Wachstum in Zuckeragar (Lackmusblaupunkt) ist zunächst bei allen Stämmen der Gruppe I ausgesprochen gut, indem das Wachstum im Stiche nach unten zwar immer etwas abnimmt, aber doch zu einem dicken stark gekörnten Stichkanale führt.

In Gruppe II wachsen nur 3 Stämme mit derselben Ueppigkeit bis unten, die 3 anderen zeigen im untersten Teile des Stiches nur schwaches Wachstum, und Stamm 25, den wir der Gruppe nur bedingt zuzählen können, läßt es ganz vermissen.

Gruppe III gibt in 11 von 15 Stämmen einen ganz auffallenden Gegensatz, indem das Wachstum unten ganz fehlt und meist auch in der oberen Partie des überschichteten Stiches sehr schwach, zum Teil kaum sichtbar ist, während sich die Kolonien in

der obersten aufgequollenen Zone und an deren Oberfläche teilweise stark entwickeln. Stamm 30 und 40 mit geringem und die Stämme 26 und 29 mit starkem anaëroben Wachstum machen davon Ausnahmen, und letztere gleichen den echten Diphtheriebazillen bei dieser Probe vollständig.

10) Das anaërobe Wachstum in alkalischem Zuckeragar von genügender Alkalikonzentration gibt uns nun eine viel deutlichere Unterscheidung.

Bei Zusatz von 12,5-proz. Normalsodalösung finden wir das Wachstum der echten Diphtheriebazillen in keiner Weise verringert. Dagegen verhalten sich die anderen Gruppen ganz anders, indem weder von Gruppe II noch von Gruppe III ein einziger Stamm in die Tiefe wächst. Wir haben also hier das erste und einzige Merkmal, in dem sich sämtliche Diphtheriebazillienstämme von allen anderen untersuchten Stämmen unterscheiden.

Für die Abgrenzung von Gruppe III würde die von Maunu af Heurlin vorgeschlagene schwächere Konzentration von 10 Proz. Sodazusatz genügen, für diejenige der Gruppe II aber nicht; noch geringerer Zusatz macht gegenüber dem neutralen Agar nur wenig Unterschied, scheint sogar bei einzelnen Stämmen direkt günstig auf das Wachstum zu wirken. Die Konzentration von 12,5 Proz. darf unserer Erfahrung nach ruhig angewendet werden, da wir in vielen Versuchen mit immer wieder frisch hergestellten Nährböden das Wachstum der Diphtheriebazillen darin nie behindert sahen, trotzdem doch der Lackmusblaupunkt und damit die Gesamtalkalinität des Nährbodens bekanntlich eine ziemlich schwankende Größe ist. Viele Stämme wachsen übrigens noch in stärkeren Konzentrationen, doch werden die meisten bei 15 Proz. schon deutlich behindert.

Eine eingehendere Besprechung über den Wert des Nährbodens folgt unten.

11) Die Gramfärbung nach Langer ergab, wie zum voraus ausgesprochen sei, keine eindeutigen Resultate. Ob wir ganz junge, 8—14-stündige oder bis zu 24 Stunden alte Reinkulturen färbten, kam aufs gleiche heraus; noch schlechter waren dann die Erfolge bei älteren Kulturen mit ihren zahlreichen Degenerationsformen. Die Notizen der Tabelle I geben für Gruppe I und II die Resultate an 8-stündigen Reinkulturen und zwar meist einige Monate nach der Isolierung. Gruppe I ist im allgemeinen negativ, d. h. rot gefärbt, doch finden sich sozusagen überall spärlichere oder reichlichere grampositive Exemplare. Meist handelt es sich bei diesen um eine Art Degenerationsformen, nämlich um ausgesprochene Keulen, oder um Stäbchen, die kürzer und plumper sind als die übrigen. 2 Stämme waren überhaupt in der Mehrzahl grampositiv, einer davon (16) hatte damals fast nur ziemlich kurze und dicke Exemplare, während er vorher (im Tuschepräparat) schlanker und länger ausgesehen hatte; doch überzeugten wir uns (durch Neißer-Färbung und anaërobes Wachstum), daß es sich immer noch um einen echten Diphtheriebacillus handelte.

Gruppe II mit ihren langen, schlanken Stäbchen ist viel deutlicher negativ, doch hatte auch sie etwa einmal grampositive Keulen. Bei kürzerer Entfärbung von verschiedenen Präparaten auf demselben Objektträger ergab sich übrigens regelmäßig, daß die Stäbchen der Gruppe II vor denen der Gruppe I entfärbt waren.

Auch in Gruppe III finden wir einige fast oder ganz negative Stäbchen (No. 27, 30, 34, 40). Rein positive Stämme sind nur selten (No. 38), die meisten zeigen eine größere Zahl von positiven und fraglichen, daneben aber auch einzelne negative Stäbchen. (Man könnte einwenden, wir hätten eben zu stark entfärbt oder vielleicht zu stark überfärbt; wenn wir aber kürzere Entfärbung anwandten oder die in der Einleitung beschriebenen anderen Alkoholsorten, so fanden wir auch die echten Diphtheriebazillen fast in Gesamtheit grampositiv. Bei Gegenfärbung mit Bismarckbraun waren sie, wie dies auch Stahr und Schmitz bemerkten, sehr oft fraglich oder in einzelnen Partien desselben Stäbchens verschieden.)

Versuche an einer Anzahl weiterer ganz frischer Reinkulturen von echten Diphtheriebazillen, die in der Tabelle nicht angeführt sind, gaben dasselbe Resultat, nämlich einzelne fragliche und positive Stäbchen fast in jeder Kultur. Wir kommen also zum Schlusse, daß diese Methode zwar im großen und ganzen auch eine Unterscheidung zwischen den 3 Gruppen gibt — Gruppe II sehr schnell entfärbt, Gruppe I, echte Diphtherie, meist leicht zu entfärben, Gruppe III meist schwer zu entfärben —, doch stehen die Resultate wegen vieler Ausnahmen den anderen Differenzierungsmethoden stark hinten an.

Fassen wir also die Resultate der verschiedenen Methoden zunächst kurz zusammen, so finden wir im Tuschepräparat, in der Lagerung und in der Neißer-Färbung Merkmale, welche Gruppe I und II von Gruppe III fast regelmäßig trennen. Voranstellen möchten wir wohl das Tuschepräparat, in dem die relativ schlanken und unregelmäßigen

Stäbchen der beiden ersten Gruppen mit ihren oft plötzlichen Verdickungen gegenüber den kürzeren und plumperen Stäbchen der Gruppe III viel deutlicher auffallen als bei allen Färbungen. Ebenso charakteristisch ist bei einiger Uebung im allgemeinen die viel unregelmäßigere Lagerung dieser Gruppe gegenüber den oft parallelen Stäbchen und Doppelstäbchen der Gruppe III. Ein ähnlich gutes Ergebnis — allerdings, wie bekannt, nicht für jeden Fall — hat die Neißer-Färbung. Recht zuverlässig ist dann für die Unterscheidung derselben Gruppen der tiefe Stich im Zuckeragar, da nur wenige Arten der Gruppe III streng anaërob wachsen. Weitaus übertroffen werden diese Resultate vom anaëroben Wachstum im alkalischen Zuckeragar, der einzigen Methode, welche genau mit der Virulenzprüfung übereinstimmt und also Gruppe I als „echte Diphtherie“ von allen übrigen untersuchten Stäbchen trennt.

Weniger zuverlässig ist die Titration auf Säurebildung, da mehrere Stämme der Gruppe III ziemlich viel, einige der Gruppe I wenig Säure bildeten. Aehnlich sind die Erfolge der Färbung nach Langer, die zwar im allgemeinen Gruppe I und II von Gruppe III trennt, aber recht viele Ausnahmen und hauptsächlich Ungleichheiten innerhalb desselben Präparates zeigt. Von den ältesten Merkmalen, der Verschiedenheit des Wachstums auf den gebräuchlichen Nährböden, ist die Kultur auf Loeffler-Serum recht charakteristisch, indem auch hier wieder Gruppe III sich fast regelmäßig durch andere Kolonien — meist viel kleinere, bei einzelnen Stämmen viel größere — von Gruppe I und II unterscheidet. Schwieriger zu beobachten ist dieser Unterschied auf Agar. Das Wachstum in Zuckerbouillon hingegen ist ziemlich uncharakteristisch.

Von den zwei neuesten Methoden, dem anaëroben Wachstum in alkalischem Zuckeragar und der verlängerten Gramfärbung, möchten wir noch einige Einzelheiten besprechen.

Maunu af Heurlin gab an, daß die Diphtheriebazillen in seinem Nährboden nur anaërob, die Pseudodiphtheriebazillen nur aërob wachsen. Nach unserer Beobachtung beruht nun ersteres auf Täuschung. Auf den ersten Blick sieht man bei Schüttelkulturen allerdings in der obersten Zone gewöhnlich nichts, dann einen Ring in der Tiefe von ca. 0,5 cm und darunter erst gutes Wachstum, in der Tiefe dann einzelne große Kolonien. Wenn man aber viele Kulturen mit wechselnden Mengen impft, so fällt auf, daß einzelne Kolonien in jeder Höhe recht groß werden, während dichtstehende Kolonien so klein bleiben, daß man sie z. B. in einem gewöhnlichen Reagenzglase von ca. 18 mm Durchmesser kaum sieht. Die oberste Zone ist nun bei diesem 1-proz. Agar nach frischem Aufkochen meist so wässerig, daß keine einzelnen Kolonien zustande kommen. In feinen Röhrchen und bei Betrachtung mit der Lupe oder dem Mikroskop findet man aber auch an dieser Stelle ein ganz diffuses reichliches Wachstum.

Ein prinzipieller Unterschied zwischen Diphtherie und Pseudodiphtherie tritt also auch bei dieser Probe nicht zutage. Wenn wir noch stärkere Konzentrationen von Sodalösung anwenden, so wachsen auch die Diphtheriestämme nur noch aërob. Ich möchte in der folgenden Tabelle II zeigen, daß wir in den „fast typischen avirulenten“, den „typischen avirulenten“ und den „echten“ Diphtheriebazillen eine fortlaufende Reihe haben, bei der es sich nur darum handelt, eine prak-

tische Abgrenzung zu finden. Diese liegt bei den von mir untersuchten Stämmen bei einem Zusatz von 125 ccm Normalsodalösung zu 1 l.

Tabelle II.  
Anaërobes Wachstum in alkalischem Zuckeragar.

No.	Name	0 Proz.	5 Proz.	7,5 Proz.	10 Proz.	12,5 Proz.	15 Proz.	20 Proz.
28	Wirth	—	—	—	—	—	—	—
21	747/16 F.	++	—	—	—	—	—	—
29	Wieser	++	++	—	—	—	—	—
22	813/16 St.	++	+	++	+	—	—	—
24	1017/16 B.	++	++	++	++	—	—	—
8	765/16 R.	++	++	++	++	++	—	—
2	803/15 J.	++	++	++	++	++	+	—
16	1398/16 C.	++	++	++	++	++	++	—
17	1334/16 R.	++	++	++	++	++	++	+

Möglich ist natürlich, daß auch dieses Merkmal nicht absolut konstant ist. Einen Vorzug besitzt es aber vor der Säurebildung, Neißerfärbung etc. sicher, nämlich daß es bei alten Kulturen nicht zu wechseln scheint. Wenigstens wachsen unsere jetzt beim Abschluß der Arbeit ca. 2 Jahre alten Stämme 1 und 2 immer noch gleich gut anaërob, die avirulenten Stämme 19 und folgende noch nicht stärker.

Uebrigens haben wir das Wachstum bei 125 ccm Sodazusatz noch bei einer bedeutend größeren Zahl als den obigen 40 Stämmen untersucht und den Unterschied regelmäßig gefunden.

Daß wir das Verfahren von Langer und Krüger so wechselnd fanden, beruht wohl in erster Linie darauf, daß wir mit Reinkulturen arbeiteten, während diese Autoren anscheinend meist ihre Originalausstriche von praktischen Fällen untersuchten. Auch wir fanden es in einer Reihe von frischen Ausstrichen im allgemeinen stimmend; allerdings war außer den Diphtheriebazillen eine Anzahl von Stämmen der Gruppe III ebenfalls gramnegativ. Wir kommen zwar zum Schlusse, daß von einem prinzipiellen Unterschiede, wie sich ihn Langer vorstellt, nicht die Rede sein kann, indem in Reinkulturen viele Degenerationsformen grampositiv sind, Formen, die auf der Originalplatte nach einigen Stunden natürlich noch nicht bestehen. Einen gewissen praktischen Wert können wir der Methode aber nicht absprechen, wenn wir auch die gebräuchlichen Färbungen und das Tuschepräparat für den täglichen Gebrauch weitaus vorziehen möchten. Uebrigens können wir die Bemerkung von Schmitz durchaus bestätigen, daß auch bei den Kokken ein absoluter Unterschied zwischen grampositiv und -negativ nicht besteht, indem sowohl Streptokokken wie Staphylokokken nach einer Viertelstunde teilweise entfärbt sind. Unserer Ansicht nach liegt bei der Diphtheriegruppe der ganze Unterschied darin, daß sich die schlanken Diphtheriebazillen schneller entfärben, als die im allgemeinen bedeutend dickeren Stäbchen der Gruppe III, während die Stäbchen der Gruppe II, die eher noch feiner sind als die echten Diphtheriebazillen, die Farbe weitaus am schnellsten abgeben. Die dicken Partien der echten Diphtheriebazillen behalten darum sehr oft die Farbe mindestens ebenso lange wie die Pseudodiphtheriebazillen. Dem widerspricht die Tatsache nicht, daß nicht alle Keulen grampositiv sind, denn auch bei der Nachfärbung mit Fuchsin sehen wir häufig, daß die geblähten Stellen, ähnlich z. B. den Degenerationsformen der anaëroben Bazillen, recht wenig färb-



bare Substanz enthalten. Wenn man übrigens echte Diphtheriestämme auf gewöhnlichen Agar impft, so finden sich nach 24—48 Stunden bei den meisten Stämmen sozusagen nur kurze plumpe Formen, die auch im Tuschepräparat der Pseudodiphtherie recht sehr gleichen und die Farbe fast durchwegs ebenso gut halten wie die Stämme der Gruppe III.

Es bleibt uns übrig, noch kurz auf einige systematische, aber zum Teil nicht ganz unpraktische Fragen einzugehen. Wir haben 6 Stämme der Gruppe II als typische avirulente Diphtheriebazillen, den 7ten als fast typischen avirulenten Diphtheriebacillus benannt. Man versteht darunter Stäbchen, die sich nur durch mangelnde Giftbildung von Diphtheriebazillen unterscheiden. Wenn wir, wie dies bei allen Stämmen der Fall war, im Ausstriche des Nasensekrets, resp. des Sputums, die Stäbchen mit regelmäßiger Polkörnchenfärbung und auch im Loeffler-Präparate typisch fanden, wenn diese Stäbchen dann in den Kulturen alle bisher als zuverlässig erachteten Merkmale außer der Virulenz zeigten, so sind wir zweifellos dazu berechtigt. Nachdem wir uns aber von der mangelnden Virulenz und dem atypischen Wachstum in alkalischem Zuckeragar überzeugt haben, fallen doch einige andere Eigentümlichkeiten, besonders die große Schlankheit der Stäbchen, auf. Für die Einteilung können wir uns mit einem Namen helfen, indem wir die Stäbchen jetzt eher nach Römer als „fast typische“ avirulente Diphtheriebazillen bezeichnen; für den Kern der Frage, nämlich ob es sich um eine Umwandlungsform des Diphtheriebacillus, um „avirulent gewordene“ Stämme handelt, nützt uns dies nichts. Auf die wirkliche Stellung dieser Stäbchen, die besonders in Ozaenafällen vorkommen, wollen wir daher nicht eingehen, bevor wir eine größere Reihe derselben und besonders ihre serologischen Merkmale geprüft haben. Ob sie mit dem oben genannten, von Landau als *Leptothrix* beschriebenen Stäbchen identisch sind, bezweifeln wir vorläufig, denn trotz ihrer Schlankheit in der Kultur sehen wir keinen Grund, sie von der Diphtheriegruppe abzutrennen. Jedenfalls bilden sie in keiner Weise einen Uebergang zwischen dem echten Diphtheriebacillus und der folgenden Gruppe, nämlich dem, was man gewöhnlich als Pseudodiphtherie bezeichnet.

Wir haben Gruppe III als diphtherieähnliche Stäbchen aufgeführt und sind uns dabei bewußt, sehr verschiedene Formen zusammengebracht zu haben. Weitaus am häufigsten fanden wir das, was man früher als *Xerosebacillus* benannt hätte, nämlich Stäbchen, die auf Loeffler-Serum und auf Agar sehr langsam und schlecht wachsen. Sie stammen meist vom Auge, einmal vom Rachen, und zeigen unter sich in Säurebildung, anaerobem Wachstum und Neißer-Färbung ziemlich große Verschiedenheiten. Eine andere Reihe (No. 27, 30, 31, 34) fällt besonders in den Agarkulturen durch ihr sehr starkes Wachstum auf. Sie stimmt darin mit den Merkmalen des Hofmann-Wellenhof'schen Pseudodiphtheriebacillus überein. Diese Stämme kommen alle aus der Conjunctiva und sind ebenfalls unter sich recht verschieden. Stamm 31 und 32, die den 2 verschiedenen Gruppen angehören und aus demselben Auge als auffallend verschiedene Kolonien isoliert wurden, scheinen aber bei näherer Betrachtung Mutanten derselben Art zu sein, so daß wir in stärkerem und schwächerem Wachstum kein absolut konstantes Merkmal sehen können und gerade wie Neißer und Römer die Gruppe bis auf weiteres einfach als diphtherieähnliche Stäbchen benennen möchten, ohne eine weitere Einteilung in einen typischen *Bacillus xerosis*, *pseudodiphtheriae*, *septatus* etc. der alten Autoren anzuerkennen.

Auf ein auffallendes Merkmal dieser Gruppe, wenigstens der schlecht wachsenden Stäbchen, die wir nirgends erwähnt fanden, möchten wir aber doch noch aufmerksam machen, nämlich daß ihre Kulturen auf Loeffler-Serum äußerst schnell absterben. Wenn wir die Serumröhrchen mit Paraffin verschlossen, so fanden wir die virulenten und avirulenten Diphtheriebazillen nach Monaten regelmäßig noch am Leben, während die xeroseartigen Stäbchen selten bis zu 3 Wochen überimpfbar blieben und oft schon nach 8—10 Tagen abgestorben waren. Noch schneller war dies bei offenen Röhrchen der Fall, in denen sich allerdings die Diphtheriebazillen ja auch recht schlecht halten.

Das praktische Ergebnis besteht unserer Ansicht nach hauptsächlich in der Prüfung des anaëroben Wachstums in alkalischem Zuckeragar, welche uns eine Abgrenzung der Diphtheriebazillen von allen ähnlichen Stäbchen gestattete, sogar von Formen, die wir sonst als typische avirulente Diphtheriebazillen bezeichnet hätten. Die Resultate der weiteren geprüften Methoden sind auf S. 27 zusammengefaßt.

#### Literatur.

- Beck, Diphtherie. Kolle-Wassermann. 1. Aufl. Bd. 2. 1903.  
 Brauweiler, Marg., Ueber das Verhalten der Diphtheriebazillen bei Gesunden und Rekonvaleszenten. Inaug.-Diss. Göttingen. 1913.  
 Burckhardt, J. L., Ein beschleunigtes Verfahren zur Diphtherievirulenzprüfung. (Berlin. klin. Wochenschr. 1916. No. 45.)  
 Gins, nach Neißer und Gins.  
 af Heurlin Maunu, Eine einfache Methode, die echten Diphtheriebazillen von Pseudodiphtheriebazillen kulturell zu unterscheiden. (Vorl. Mitteilung.) (München. med. Wochenschr. 1914. S. 702.)  
 Hewlett and Knight, Trans. Brit. Inst. prev. Med. Ser. 1 1897. (Zit. nach Neißer und Gins.)  
 Jacobitz, Die spezifische Entfärbung der Diphtheriebazillen nach Langer. (Berlin. klin. Wochenschr. 1917. S. 138.)  
 Klinger und Schoch, Ueber die Leistungsfähigkeit und den Wert der bakteriologischen Diphtherieuntersuchung. (Korr.-Bl. f. Schweiz. Aerzte. 1916. S. 1601.)  
 Landau, Ueber diphtherieähnliche Stäbchen in der normalen Mundhöhle und ihre Beziehung zur Leptothrix. (Berlin. klin. Wochenschr. 1916. S. 717.)  
 Langer, Die Agglutination der Diphtheriebazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 117.)  
 — Wege und Ziel der bakteriologischen Diphtheriediagnostik. (Berlin. klin. Wochenschrift. 1916. S. 850.)  
 — und Krüger, Die Gramfestigkeit der Diphtheriebazillen und der Pseudodiphtheriebazillen als differential-diagnostisches Merkmal. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. No. 24. S. 722.)  
 Martin et Loiseau, Culture des bacilles de la diphthérie en tubes de Veillon. (Compt. rend. Soc. biol. 1916. p. 677.)  
 Neißer, Bakteriologie der Diphtherie. (Fr. Ver. f. Mikrobiologie. Berlin 1913.)  
 — und Gins, Ueber Diphtherie. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 5. 1913.  
 Römer, Bakteriologische Diphtheriestudien. (Berlin. klin. Wochenschr. 1914. S. 503.)  
 Seligmann, Ueber Diphtheriebazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. S. 129.)  
 Schmitz, Beitrag zur Kenntnis der Diphtherie- und der sogenannten Pseudodiphtheriebazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913.)  
 — Ueber die Gramfestigkeit der Diphtheriebazillen und ihre theoretische und praktische Bedeutung. (Berlin. klin. Wochenschr. 1917. S. 136.)  
 Schürmann, Die bakteriologische Diphtheriediagnose etc. (Hyg. Rundsch. 1915. S. 729.)  
 Stahr, Zur Gramfärbung des Loefflerschen Diphtheriebacillus. (München. med. Wochenschr. 1916. S. 1041.)  
 Tompakow, Ueber den Wert des neuen Conradschen Verfahrens für die Diphtheriediagnose. Inaug.-Diss. Basel. 1914.

*Nachdruck verboten.***Körner in nach Ziehl gefärbten Tuberkelbazillen.**

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg (Direktor: Geh. Hofr. Prof. Dr. H. Kossel).]

Von Dr. med. Eleonore Fitschen.

Fast jeder, der Tuberkelbazillen nach Ziehl färbt, wird einmal eigentümliche Körnerbildungen in den gefärbten Bakterienzellen beobachtet haben. Es sind kugelige oder ovale Körner von schwarzroter, fast schwarzer Farbe, die gewöhnlich einzeln, seltener zu zweien oder dreien in einem Stäbchen sitzen. Befindet sich nur ein Körnchen im Stäbchen, so sitzt es am Pole oder ungefähr in der Mitte des Stäbchens, bei manchen Bazillen an einer Knickungsstelle. Man sieht zuweilen das Ende der Zelle um ein Stück über das Körnchen am Pol hinausragen. Sind 2 Körnchen vorhanden, so sieht man gewöhnlich an jedem Ende der Zelle eines liegen. Die Körnchen treten plastisch hervor und überragen oft seitlich die Zellgrenzen um das 2- und 3-fache. Der Rest der Zelle erscheint oft stark abgeblaßt, zuweilen so blaß, daß er kaum wahrnehmbar ist. Bei kurzen Bazillen ist der Rest der Zelle als kurzer Fortsatz am Körnchen zuweilen so schwer wahrnehmbar, daß ein Körnchen ohne Zelle vorzuliegen scheint. Gerade Stäbchen mit Körnchen an einem Pole erinnern in ihrem Aussehen an Bazillen mit endständigen Sporen. Außer Bazillen mit scharf ausgeprägten Körnern sieht man andere, in denen die Körnerbildung nur angedeutet ist. Es sind in den Stäbchen eine oder mehrere rundliche Stellen zu sehen, die dunkler rot erscheinen als ihre Umgebung, von der sie jedoch nicht scharf abgegrenzt sind.

In ähnlicher Weise hat Czaplewski in seiner Schrift über die Untersuchung des Auswurfs diese auffallende Erscheinung beschrieben. Es gelang ihm, dieselben Körnchen, die er in Ziehl-Präparaten gesehen hatte, durch eine Doppelfärbung (Karbolfuchsin und darnach Methylenblau in physiologischer Kochsalzlösung) blau in roten Stäbchen darzustellen und durch eine andere Doppelfärbung (Modifikation der Neißerschen Sporenfärbung) rot in blauen Stäbchen. Er vermutete, daß die größeren Körnchen Sporen seien, kleinere dagegen nur Vorstufen zu Sporen. Czaplewski erwähnt, daß schon Ehrlich, als er nach Färbung der Tuberkelbazillen mit Anilinfuchsin Natriumsulfit zur Entfärbung verwandt hatte, Körnchen erhielt, die wahrscheinlich die gleichen gewesen seien. Ungefähr zu der gleichen Zeit wie Ehrlich hat Babes rote Körperchen in blauen Tuberkelbazillen dargestellt, indem er mehrere Tage in der Ehrlichschen Lösung färbte, stark entfärbte und dann eine sehr intensive Färbung mit Methylenblau folgen ließ.

In der Literatur finde ich dann noch in derselben Weise gekörnte Bazillen von Copen Jones beschrieben, der die Körnchen für Sporen hält und angibt, daß sie die Neißersche Sporenreaktion geben und sehr widerstandsfähig gegen Säure seien.

Arnold Grimme beschreibt die gleichen Körnchen bei den Timothee-Bazillen, bei denen er sie aber nur in sehr jungen Kulturen findet. Er vermutet, daß die von ihm gesehenen Körnchen den von Copen Jones in Tuberkelbazillen gefundenen entsprechen und Cytoplasmaballen vorstellen, daß sie entstehen, indem das Cytoplasma durch Farbstoffaufnahme quillt.

Granula oft in größerer Zahl in einem Bacillus hat Minder bei den nach Ziehl gefärbten Bazillen der Vogeltuberkulose gesehen. Bei nach Ziehl gefärbten Bazillen des Typus humanus und bovinus fand er sie nicht. Die Körnchen sind nach ihm differenzierte Teile des Protoplasmas, die den Farbstoff viel intensiver an sich reißen und bei den Vogeltuberkelbazillen sowohl nach Ziehl wie nach Much darstellbar sind. Er unterscheidet unter den Granula die an den Polen gelegenen von den übrigen, denn er glaubt, daß die Polkörner, die er in den Vogeltuberkelbazillen nach Giemsa und

durch die Neißersche Diphtheriefärbung darstellen konnte, sich wahrscheinlich auch nach Ziehl wie nach Much färben. Sie stellten vielleicht Anhäufungen von Reservestoffen im Sinne der Babes-Ernstschen Körperchen bei den Diphtheriebazillen vor.

Die übrige reichhaltige neuere Literatur über die Körner in den Tuberkelbazillen übergehe ich hier, da es sich um andere Färbemethoden handelt.

In den in gewöhnlicher Weise nach Ziehl gefärbten Präparaten sieht man das Auftreten deutlich ausgeprägter Körner nur in seltenen Fällen und man muß annehmen, daß in diesen Fällen eine kleine Abweichung von der gewöhnlichen Behandlung des Präparats stattgefunden hat. Die Körner durch die Ziehl-Färbung willkürlich und regelmäßig darzustellen, war, soweit es mir aus der Literatur bekannt ist, bisher nicht gelungen.

In einem Sputumpräparat, das ich 5 Minuten lang mit Karbolfuchsin unter Dampfbildung, nicht unter Blasenbildung erwärmt und dann mit 5-proz. Schwefelsäure und mit absolutem Alkohol entfärbt hatte, sind mir die besprochenen Körner zum ersten Male entgegengetreten. Ich suchte sie dann in mehreren Präparaten aus demselben Sputum nochmals hervorzurufen, indem ich möglichst genau das gleiche Verfahren bei der Färbung zu wiederholen suchte. Es war vergebliche Mühe. Als mir dann wieder einmal die Körnchen in einem Sputumpräparat begegneten, war es ein Präparat, das ich viel kürzere Zeit mit Karbolfuchsin erhitzt, überhaupt etwas hastig gefärbt hatte. Entfärbt hatte ich diesmal mit 3-proz. Salzsäurealkohol. Ich hielt es für möglich, daß schroffer Wechsel zwischen Hitze beim Färben und Kälte beim Entfärben diesmal die Ursache der Körnelung gewesen sei, stellte Versuche in dieser Richtung an, aber wieder vergeblich.

Als ich bei Gelegenheit einer anderen Untersuchung in Karbolfuchsin gefärbte Bazillen aus einer Reinkultur aus 3-proz. Salzsäurealkohol in einen Wassertropfen gebracht hatte, zeigte sich mir unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen von neuem das Bild der Körnelung. Wiederholte, in verschiedener Weise variierte Versuche bestätigten dann die Erfahrung, daß sich die Körnchen regelmäßig zeigen, wenn man das Ziehl-Präparat nach der Entfärbung durch Säure in Wasser legt und einige Zeit darin liegen läßt.

Das Material, das ich zu den Versuchen gebrauchte, stammte aus älteren Bouillonkulturen, denen ich jedoch auch die jüngsten Teile entnahm, welche noch als zartes Häutchen auf der Bouillon wuchsen. Außerdem untersuchte ich noch 4 Sputa und 1 Harnsediment und konnte auch in ihnen die Körner regelmäßig darstellen. Ob ich das Material aus den jüngeren oder älteren Teilen der Kultur nahm, machte in bezug auf das Auftreten der Körner keinen Unterschied.

Damit die Körnelung der Bazillen in der beschriebenen Weise zustande kommt, müssen also 3 Bedingungen erfüllt werden: 1) Färbung mit Karbolfuchsin, 2) Entfärbung, 3) eine Einwirkung von Wasser von genügender Dauer. Jede dieser 3 Bedingungen mußte ich variieren, um zu erkennen, was für das Hervortreten der Körnchen wesentlich, was unwesentlich ist.

1) Die Färbung geschah gewöhnlich unter kurzer Erwärmung des Deckglaspräparats über der Flamme bis zur Dampfbildung. Dann ließ ich das Präparat bis zum Erkalten stehen oder noch einige Minuten länger. Wurde das Präparat nach diesem Verfahren durch Säure entfärbt, ins Wasser gelegt, so traten Körner auf; wurde das Präparat danach in derselben Weise entfärbt, aber nur kurz unter dem Strahl

des Leitungswassers gespült, so zeigten sich keine Körner. Das Moment, das die Körnerbildung bewirkt, konnte also nicht in diesem ersten Teile der ganzen Behandlung, der „Färbung“ liegen. Variationen dieses Teils der Behandlung zeigten keinen Einfluß in bezug auf das Auftreten der Körner. Ein Präparat wurde 1mal 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur im Karbolfuchsin liegen gelassen, ein anderes kurz über der Flamme unter Aufkochen der Färbeflüssigkeit, ohne es in der Farbflüssigkeit erkalten zu lassen, gefärbt. Es ließ sich keine Begünstigung oder Beeinträchtigung der späteren Körnerbildung erkennen.

2) Die Entfärbung nahm ich gewöhnlich vor, indem ich das Präparat in ein Schälchen mit der Entfärbungsflüssigkeit legte. Zur Entfärbung habe ich gebraucht: 1) 3-proz. Salzsäurealkohol, 2) 1 Teil 3-proz. Salzsäurealkohol auf 3 Teile Wasser, 3) 5-proz. Schwefelsäure und darauf absoluten Alkohol, 4) 25-proz. Schwefelsäure und absoluten Alkohol, 5) die von Czaplewski zum Entfärben von Karbolfuchsinpräparaten gebrauchte Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit (2 g NaCl, 2 g Salzsäure auf 100 ccm Wasser. Davon 1 Teil auf 5 Teile absoluten Alkohol). Dann schaltete ich den Alkohol aus und entfärbte mit Säure in wässriger Lösung von verschiedener Konzentration mit 50-, 10-, 3- und 1-proz. Salzsäure, mit 25- und 5-proz. Schwefelsäure, ferner mit der Lösung von 2 g NaCl und 2 g Salzsäure in 100 ccm Wasser ohne den Zusatz von Alkohol. Körnchen erhielt ich bei allen diesen Entfärbungsarten, doch die Vollkommenheit der Körnelung war nicht immer gleich. Ich fand im allgemeinen, daß Alkohol für die Darstellung der Körnchen nicht nur überflüssig war, sondern sie eher hinderte als förderte. Dennoch erhielt ich die vollkommenste Körnelung gerade in 2 Präparaten, die ich durch die alkoholhaltige Ebnersche Flüssigkeit entfärbt hatte, die weniger als  $\frac{1}{2}$  Prozent Salzsäure enthält. Für die Sputumpräparate empfahl es sich schon deshalb Alkohol zu nehmen, weil die Entfärbung ohne denselben schlecht vonstatten geht.

Die Dauer der Säureeinwirkung hatte innerhalb gewisser Grenzen keinen Einfluß auf das Gelingen des Versuchs. Ein Minimum der Entfärbungsdauer für die Erzielung einer Wirkung muß es geben. Ich habe es nicht bestimmt. Starke Säurelösung durfte selbstverständlich wegen zu starker Entfärbung nur sehr kurze Zeit einwirken. Nach einige Sekunden langer Einwirkung von 50-proz. Salzsäure trat gute Körnelung auf, jedoch eine vollkommenere nach der  $\frac{1}{2}$  Minute dauernden Einwirkung von 10-proz. Salzsäure. Nach ebenso kurzer Einwirkung von 3-proz. Salzsäurealkohol war die Körnelung gering. Nach der Einwirkung von Salzsäurealkohol während 1 Minute war die Körnelung vollkommener und ebenso vollkommen wie nach einer Einwirkung von 5 Minuten. Ich konnte in einem Präparat, das ich  $1\frac{1}{2}$  Stunden im 3-proz. Salzsäurealkohol liegen gelassen hatte, noch zahlreiche Körner zur Darstellung bringen, die etwas klein, aber dunkel waren.

Ich versuchte auch Entfärbung durch Natronlauge und Alkohol statt durch Säure. Ich konnte danach keine Körner erhalten.

Die Körnelung tritt, wenn man eine Säure von starker Konzentration oder 3-proz. Salzsäurealkohol zur Entfärbung gebraucht hat, erst nach der Entfärbung, nach der Uebertragung des Präparats in Wasser ein. Wenn man eine nur 1-proz. wässrige Säurelösung genommen hat, tritt die Körnelung schon in dieser auf. Ebenso in einer Mischung von 1 Teil 3-proz. Salzsäurealkohol und 3 Teilen Wasser.

3) Die Einwirkung des Wassers. Das Präparat wurde aus

der Säurelösung zuweilen direkt in das Wasser übertragen, zuweilen unter dem Strahl der Wasserleitung vorher kurz abgespült, um keine Säure mit zu übertragen. Das machte keinen Unterschied. Das Einwirkenlassen des Wassers habe ich in folgender Weise variiert: ich nahm destilliertes Wasser statt Leitungswasser und es schien mir, daß die Körnelung dadurch deutlich begünstigt wurde. Ich setzte dem destillierten Wasser Kochsalz zu und fand, daß dieser Zusatz bis zu 5 Prozent hinauf die Körnelung nicht im mindesten beeinträchtigte. In 10-proz. Kochsalzlösung war sie dagegen nur noch eben angedeutet.

Auf die Dauer der Einwirkung des Wassers kam es innerhalb gewisser Grenzen, die ich nicht genau bestimmt habe, nicht an. Es ist bekannt, daß ein kurzes Abspülen des Präparats in einem Wasserstrahl in der Regel keine Körnelung bewirkt. Ich habe sie nach einer Einwirkungsdauer von 2 Minuten sehr ausgeprägt gesehen, ebenso vollkommen wie nach 5 oder 10 Minuten.

Die Körnelung ist bei meinen Versuchen nur 2mal so vollkommen aufgetreten, daß ich in dem Präparat keine Bazillen ohne Körner sah. Es war dies nach Entfärbung durch Ebnersche Flüssigkeit und darauf folgende Einwirkung von physiologischer Kochsalzlösung. In den übrigen Fällen blieb ein kleiner oder größerer Teil der Bazillen gleichmäßig gefärbt.

Wenn ich ein Präparat mit gekörnten Bazillen aus destilliertem Wasser in Salzsäurealkohol oder in eine wässrige Salzsäurelösung von genügend starker Konzentration zurückbrachte, verschwanden die Körnchen. Der Farbstoff verteilte sich wieder gleichmäßig auf die ganze Zelle. Unter dem Mikroskop konnte man dieses Verschwinden bewirken, wenn man in Wasser untersuchte und vom Deckglasrande aus Salzsäure oder Salzsäurealkohol zusetzte. Dann konnte man durch Zusatz von Wasser vom Deckglasrande wieder Körnelung hervorrufen und den Wechsel zwischen Körnelung und Verschwinden der Körner sich so öfters wiederholen lassen. Nur wurde es mit der Zeit immer schwerer, die Körner wieder zum Vorschein zu bringen. Eine Zeichnung der Bazillen nach dem ersten Auftreten der Körner ermöglichte es, festzustellen, wie sich dieselben Bazillen bei dem erneuten Hervorrufen der Körnelung verhielten, auch wenn man das Verschwinden der Körner und ihr Wiedererscheinen durch Einlegen in Schälchen mit den Flüssigkeiten bewirkt hatte. Die Körnchen zeigten sich bei ihrem Wiederauftreten nicht immer an den gleichen Stellen der Zelle wie vorher. Die gleiche Feststellung haben Bittrolff und Momose an den Muchschen Granula gemacht, wenn sie sie mit 5-proz. Karbolsäure entfärbt und dann wieder gefärbt hatten. Auch haben sie die gleichmäßige Verteilung der Farbe von den Granula aus auf die ganze Zelle beobachtet, bei den Muchschen Granula nach Einwirkung von 5-proz. Karbolsäure oder Anilinwasser. Somit verhalten sich die Körnchen in den Ziehl-Präparaten in dieser Beziehung wie die Muchschen Granula.

Bei der Verfolgung des Vorganges der Körnelung unter dem Mikroskop konnte ich sehen, wie in Bazillen, in denen die Körner zuerst nur angedeutet waren, ein Uebergang zur stark ausgeprägten Körnelung stattfand. Undeutliche Körnchen, nicht scharf abgegrenzt, etwas dunkler rot als der umgebende Teil der Zelle, lagen zuweilen zu mehreren in einer Zelle. Sie blaßten ab bis auf eins und verschwanden schließlich; dieses eine aber trat immer deutlicher hervor und wurde ganz dunkel.

Einmal beobachtete ich, daß eine von mir gezeichnete Zelle, die bei

der erstmaligen Einwirkung des Wassers gleichmäßig gefärbt gewesen war, während viele andere Bazillen gut ausgeprägte Körner zeigten, bei der Wiederholung des Versuchs ein Korn aufwies, während jetzt ein großer Teil der übrigen Zellen keine Körner mehr bekam. Daß ein Bacillus bei einem Versuch keine Körner zeigt, beweist also nicht, daß überhaupt keine in ihm auftreten können. Es muß hierbei ein noch unbekanntes Moment im Spiele sein. Es wäre denkbar, daß es in der lebenden Zelle eine ganze Reihe präformierter Gebilde, Körnchen oder Vakuolen gibt, von denen jedoch nur ein einziges oder wenige den Farbstoff an sich ziehen, während die übrigen aus einem unbekannten Grunde nicht sichtbar werden. Das dafür bestimmende Moment könnte das gleiche sein, das darüber entscheidet, welche Zellen im Präparat sich körnern.

Meine Beobachtungen sprechen jedoch dafür, daß die Körnchen als solche in der lebenden Zelle nicht präformiert sind. Die Entstehung der Körnchen ist demnach vermutlich im Sinne von Grimme als durch physikalische Einflüsse mitbedingt anzusehen; keinesfalls aber sind sie als Wachstumserscheinungen zu deuten, die der Sporenbildung der sporentragenden Bakterien entsprechen, wie noch in neuerer Zeit immer wieder behauptet wird.

#### Literatur.

- Cornil et Babes, *Les Bactéries*. 3. éd. 1890. T. II. p. 382.  
 Czaplewski, *Untersuchung des Auswurfs*. S. 51. 1891.  
 Jones, Coppen, *Ueber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkelpilzes*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 17. 1895. S. 1.)  
 Grimme, Arnold, *Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32.)  
 Minder, L., *Ueber morphologische und tinktorielle Besonderheiten bei Tuberkelbazillen vom Typus gallinaceus unter spezieller Berücksichtigung der Granula*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. H. 2. S. 113.)  
 Bittrolff u. Momose, *Beiträge zur Frage des granulösen Tuberkulosevirus*. (Veröffentlichungen der Robert Koch-Stiftung zur Bekämpfung der Tuberkulose. Heft 4.) (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Dysenterietoxin und Dysenterieantitoxin.

### I. Ein bisher unbekanntes Dysenterietoxin in den mannitvergärenden Stämmen A-H von Kruse.

[Aus dem k. k. Serotherapeutischen Institut in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. E. Paltauf).]

Von Prof. Dr. Ernst Příbram.

Seitdem die Giftigkeit der Dysenteriebakterien des Typus Shiga-Kruse, welcher auf Mannitnährböden keine Säure produziert, festgestellt worden ist [Todd<sup>1)</sup>, Rosenthal<sup>2)</sup>, Kraus und Dörr<sup>3)</sup>], wurde

1) Todd, Ch., On a dysentery antitoxin. (Brit. med. Journ. 1903. No. 2240; Journ. of Hyg. 1904. p. 480.)

2) Rosenthal, L., Ueber das Dysenterietoxin. (Sekt. f. Bakter. d. Kais. Ges. f. Naturkunde in Moskau. 1. Febr. 1903.) — Ueber die Serotherapie der Dysenterie. (Ibid. 1. Nov. 1903; Orig.-Ref. in Centralbl. f. Bakt. I. Ref. Bd. 34. 1904.)

3) Kraus, R., u. Dörr, R., Die experimentellen Grundlagen einer antitoxischen Therapie der bazillären Dysenterie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55. S. 1. 1906.) = Ueber experimentelle Therapie der Dysenterie. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. S. 1077.)

sowohl von diesen Autoren als auch in späterer Zeit immer wieder vergeblich nach dem Gifte der Mannit säuernden Dysenteriebakterien gesucht, ohne daß es gelang, ein solches einwandfrei nachzuweisen. Kraus und Dörr schreiben hierüber: „Es ist uns bisher nicht gelungen, in einwandfreier Weise aus den verschiedenen Kulturen des Typus Flexner ein lösliches Toxin zu gewinnen. Einigemal konnten wir mit Filtraten der Bouillonkulturen nach intravenöser Injektion bei Kaninchen ein ähnliches Krankheitsbild hervorrufen, wie mit dem Gifte des Bacillus Shiga. Aber konstant ein Gift zu erhalten, gelang bisher nicht. Ob wir es mit einem Toxin zu tun haben oder bloß mit ausgelaugten endozellulären Giften, konnten wir noch nicht entscheiden, da das Gift sehr rasch sich ändert, zum Unterschied vom Toxin des Bacillus Shiga.“ So gelangten Kraus und Dörr dazu, den giftigen von dem giftarmen Typus abzutrennen. An dieser Einteilung läßt sich nach den hier mitzuteilenden Untersuchungen nicht mehr festhalten, doch war sie zweifellos für uns von allergrößtem heuristischen Werte, weil sie ganz klar den Weg zeigte, auf welchem die weitere Forschung sich zu bewegen hatte, um den Zusammenhang mit der experimentellen Forschung und mit der menschlichen Pathologie nicht zu verlieren. Wir sehen uns also genötigt, auf die von den amerikanischen Forschern gewählte Nomenklatur zurückzugreifen, welche kurzweg von „non-acid strains“ (Typus Shiga-Kruse) und „acid strains“ (Typus der „toxinarmen Gruppen“ im Sinne von Kraus und Dörr) sprechen. Da wir einer internationalen Nomenklatur nach botanischen Grundsätzen den Vorzug geben, so wollen wir von *Bact. dysenteriae* Shiga-Kruse, *typus non acidificans* (sc. Mannit), und *Bact. dysenteriae* (Flexner-Kruse) *typus acidificans* („*Bact. pseudodysenteriae* Kruse“) sprechen und als deutsche Trivialnamen kurzweg den Ausdruck *Bact. Shiga-Kruse* für den einen und „Mannitvergärer“ für den anderen Typus wählen.

Kraus und Dörr haben in einer Reihe von Untersuchungen die Bedingungen festgestellt, unter welchen die Dysenteriebakterien des Typus Shiga-Kruse Toxin produzieren, wie dieses Toxin im Tierversuche wirkt, und haben Methoden für die Auswertung des Antitoxins angegeben. Damit war die Frage der Giftwirkung dieser Stämme und der Bereitung von Antitoxin zunächst erschöpfend behandelt. Anders verhielt es sich mit dem Mannit vergärenden Typus. Obwohl kein Zweifel bestand, daß auch hier Erreger einer schweren, zuweilen tödlich verlaufenden Krankheit vorliegen, konnten niemals Toxine in den Kulturfiltraten nachgewiesen werden, welche in ihrer Wirksamkeit, Haltbarkeit und Fähigkeit, Antitoxinbildung hervorzurufen, dem Toxin des anderen Typus entsprochen hätten.

Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz<sup>1)</sup> haben in einer äußerst sorgfältigen Arbeit den Nachweis erbracht, daß die Gruppenbildung innerhalb des Mannit vergärenden Typus auf Grund des Verhaltens dieser Stämme zu den verschiedenen Zuckerarten (Maltose, Saccharose) nicht berechtigt sei, und das Gleiche geht auch bei eingehender kritischer Beleuchtung aus der gesamten vorliegenden Literatur eindeutig hervor; da Halle und Přibram<sup>2)</sup> in einem eben erschienenen Referate über die Dysenterie sich mit diesen Gründen ausführlich beschäftigen, können

1) Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz, Dysenterie und Pseudodysenterie (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57. 1907. S. 417.)

2) Halle u. Přibram, Weichardts Ergebnisse der Immunitätsforschung. Bd. 2. 1917. S. 338.



wir hier das Resultat dahin zusammenfassen, daß eine wissenschaftliche Gruppierung nur auf Grund der durch die Castellanische Absättigung der Agglutinine kontrollierten Agglutination berechtigt sei, wobei nicht nur auf die passive Agglutinabilität der in Frage stehenden Stämme, sondern auch auf ihre agglutinogenen Eigenschaften Rücksicht genommen werden muß. Es ist daher vielleicht ein Teil der Mißerfolge der bakteriologischen Diagnostik auf die Verwendung der auf Grund kultureller Differenzierung gewonnenen diagnostischen Sera („Flexner-Serum“, „Y-Serum“, „Strong-Serum“) zurückzuführen, welche durchaus nicht alle Rassen des Mannit säuernden Typus umfassen. Kruse und seine Mitarbeiter haben aus diesem Grunde mit einer Reihe von Stämmen, die sie in verschiedenen Dysenterieepidemien gesammelt hatten, diagnostische Sera hergestellt, und mit Hilfe dieser Sera die einzelnen Gruppen voneinander differenziert. Sie benennen diese Gruppen mit den Buchstaben A—H. Auf die Bitte um Ueberlassung der Teststämmen dieser Gruppe wurden uns von Prof. Kruse folgende Testkulturen seiner Rassen zur Herstellung agglutinierender Sera freundlichst eingesendet: A<sup>115</sup>, A-Breidenbach, D<sup>118</sup>, E<sup>65</sup>, H<sup>39</sup>, H-Hallmann. Schon nach den ersten Injektionen, welche mit  $\frac{1}{5}$  und  $\frac{1}{10}$  Oese abgetöteter Kultur vorgenommen wurden, zeigte sich, daß alle diese Kulturen, obwohl einzelne davon bereits lange Zeit im Laboratorium fortgezüchtet wurden, für Kaninchen außerordentlich giftig sind. Alle infizierten Tiere gingen, meist schon nach der 1. Injektion, innerhalb weniger Tage ein. Am giftigsten erwiesen sich D<sup>118</sup> und E<sup>65</sup>.

Die Tatsache der Giftigkeit von Mannit vergärenden Dysenteriestämmen ist nicht neu<sup>1)</sup>. Schon Castellani<sup>2)</sup> fand solche Stämme und schlug für sie den Namen „Paradysenteriestämme“ vor. Der Name wird von Kruses Mitarbeiter Kemp<sup>3)</sup> abgelehnt. Kruse<sup>4)</sup> selbst gibt in der früher erwähnten Arbeit an, daß die Pseudodysenteriebazillen für Kaninchen bedeutend weniger giftig seien als echte Ruhrbazillen, „doch sind uns einige Stämme begegnet, die auch in Gaben von  $\frac{1}{20}$  oder  $\frac{1}{50}$  Agarkultur vom Blute aus schnell töten. Ja gelegentlich beobachtet man die gleichen Krankheitserscheinungen (Lähmungen und hämorrhagische Colitis).“ Wenn Kruse<sup>5)</sup> diese, wie wir sehen werden wichtige Tatsache nur nebenher erwähnt, so geschieht dies deshalb, weil er der Pathogenität der Dysenteriebazillen für Tiere keine große Bedeutung für die menschliche Pathologie beimißt, vielmehr der Ansicht ist, daß derartige experimentelle Ergebnisse für die menschliche Pathologie nicht verwertet werden können. Uns scheint aber gerade die Frage der Toxizität und insbesondere die Toxinbildung, so wie sie Kraus und Dörr scharf gefaßt und eingehend untersucht haben, von prinzipieller Bedeutung für die Aetiologie und insbesondere die Therapie der Dysenterie. Die auffallende Giftigkeit der Kruseschen Kulturen gab Veranlassung, ihre Bouillonkulturen zu untersuchen und die Giftigkeit im Tierversuche zu prüfen.

Ueber die Giftigkeit der Kulturen der Mannit vergärenden Stämme

1) Vgl. die eingangs zitierte<sup>1)</sup> Bemerkung von Kraus u. Dörr, sowie ihre Mitteilungen in derselben Arbeit S. 20 über die Filtrate sehr alter Flexner-Kulturen.

2) Castellani, Dysentery in Ceylon. (Journ. of the Ceylon Branch of the Brit. Med. Assoc. 1904.)

3) Kemp, Ueber Paradysenterie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57. 1907. S. 489.)

4) Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz (l. c. S. 433).

5) Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz (l. c. S. 435).

Kruses gaben folgende Versuche Aufschluß, welche mit bei 56° abgetöteten Kulturen ausgeführt wurden, in der Absicht, agglutinierende Sera herzustellen:

- I) D<sup>118</sup>: 1) Kaninchen No. 1313 erhielt am 26. August  $\frac{1}{10}$  Oese D<sup>118</sup> intravenös  
29. August tot  
2) " " 590 " " 2. Sept.  $\frac{1}{20}$  " D<sup>118</sup> "  
11. " tot  
3) " " 348 " " 11. "  $\frac{1}{30}$  " D<sup>118</sup> "  
" " 348 " " 18. "  $\frac{1}{30}$  " D<sup>118</sup> "  
25. " tot  
II) E<sup>65</sup>: 1) " " 833 " " 19. August  $\frac{1}{4}$  Oese E<sup>65</sup> (abgetöt.) intrav.  
21. " tot  
2) " " 973 " " 26. "  $\frac{1}{10}$  " E<sup>65</sup> " "  
29. " tot  
3) " " 1079 " " 18. Sept.  $\frac{1}{100}$  " E<sup>65</sup> " "  
25. "  $\frac{1}{15}$  " E<sup>65</sup> " "  
2. Okt. tot  
III) H<sup>39</sup>: 1) " " 171 " " 19. August  $\frac{1}{4}$  " H<sup>39</sup> " "  
26. " tot  
2) " " 1394 " " 18. Sept.  $\frac{1}{50}$  " H<sup>39</sup> " "  
25. " tot

Die Kulturen schienen bei häufigerer Ueberimpfung an Giftigkeit zuzunehmen. Dies zeigte sich insbesondere bei den Stämmen D<sup>118</sup> und H-Hallmann, von welcher letzterem folgende Uebersicht hier Platz finden möge:

IV) H-Hallmann:

- 1) Kaninchen No. 1883 erhielt am 12. August  $\frac{1}{4}$  Oese (lebende Kultur) intravenös  
" " " 19. "  $\frac{1}{4}$  " ( " " ) "  
26. " tot  
2) " " 348 " " 26. "  $\frac{1}{10}$  " (abgetöt. " ) "  
" " 2. Sept.  $\frac{1}{20}$  " ( " " ) "  
9. " tot  
3) " " 883 " " 11. "  $\frac{1}{30}$  " ( " " ) "  
" " 18. "  $\frac{1}{20}$  " ( " " ) "  
25. " tot  
4) " " 350 " " 25. "  $\frac{1}{100}$  " ( " " ) "  
2. Okt. tot

Die geringste Giftigkeit zeigten die beiden Stämme der Rasse A: A<sup>115</sup> und A-Breidenbach, von denen  $\frac{1}{4}$  Oese bei einmaliger Injektion vertragen wurde und mit  $\frac{1}{10}$  oder  $\frac{1}{20}$  Oese fortlaufend immunisiert werden konnte.

Zunächst wurde der Versuch gemacht, mit dem Stamme D<sup>118</sup> ein Bouillontoxin herzustellen. Eine schwach alkalische Bouillon, im Liter 6 ccm n-Sodalösung über dem Lackmusneutralpunkt enthaltend, wurde mit dem Stamme D<sup>118</sup> beimpft, nach 21 Tagen (Wachstum vom 6.—27. Sept.) mit 0,5 Proz. Karbolzusatz abgetötet und zunächst nach Filtration durch Filterpapier die Giftigkeit geprüft:

- 1) Kaninchen No. 1221, 1200 g, erhielt 0,5 ccm Bouillonfiltrat am 27. Sept. intravenös  
28. " früh bereits tot  
2) " " 8, 1000 " " 0,1 " " " 28. " intravenös  
29. " tot

Nun wurde diese Bouillonkultur nach Filtration durch Berkefeld-Filter abermals geprüft, mit folgendem Ergebnis:

- Kaninchen No. 7, 1200 g, erhielt am 30. Sept. 0,5 ccm Toxin D<sup>118</sup> intravenös  
1. Okt. krank  
2. " tot

Das Toxin behielt also nach Filtration durch Tonfilter seine Giftigkeit, welche etwa 0,42 ccm pro Kilogramm Kaninchen beträgt, wenn

man die innerhalb 3—4 Tagen tödliche Dosis als Grenzwert annimmt. Bei einer Prüfung 4 Wochen später war die Giftigkeit immer noch die gleiche:

Kaninchen No. 381, 1200 g, erhielt am 25. Okt. 0,5 ccm Toxin D<sup>118</sup> (vom 27. Sept.) intrav.  
26. „ tot

Auch eine relativ geringere Menge erwies sich noch als tödlich (0,35 pro Kilogramm):

Kaninchen No. 1838, 1450 g, erhielt am 27. Okt. 0,5 ccm Toxin (vom 27. Sept.) intravenös  
3. Nov. Paresen  
5. „ tot

Diese Versuche zeigen, daß es möglich ist, mit der von Kruse und seinen Mitarbeitern gezüchteten Mannit vergärenden Dysenteriekultur D<sup>118</sup> ein ähnliches Dysenterietoxin herzustellen, wie dies bisher nur mit Kulturen des Typus Shiga-Kruse, dem die Eigenschaft der Mannitvergärung fehlt, gelungen war. Da, wie oben gezeigt, auch die anderen uns zur Verfügung stehenden Stämme der Rassen A, E, H Kruses sich als giftig erwiesen hatten, wurden auch mit diesen Toxine hergestellt. Bouillonkulturen der Stämme A<sup>115</sup>, A-Breidenbach, D<sup>118</sup>, E<sup>65</sup>, H<sup>39</sup>, H-Hallmann wurden nach 3 Wochen langem Wachstum (1.—21. Okt. 1916) durch Zusatz von 0,5 Proz. Karbollösung abgetötet und am 27. Okt. durch Berkefeld-Filter filtriert. Die intravenösen Injektionen dieser Toxine wurden erst 1 Monat nach Herstellung (Filtration) der Toxine vorgenommen, wodurch gleichzeitig die Haltbarkeit geprüft wurde. Es wurden je 0,5 ccm pro Kilogramm Kaninchen injiziert.

Toxin A<sup>115</sup>: Kaninchen No. 1375, 1000 g, erhielt am 18. Nov. 0,5 ccm intravenös  
25. „ tot (hochgradig abgemag.)  
„ A-Breidenbach: Kaninchen No. 1840, 1000 g, erhielt am 18. Nov. 0,5 ccm intravenös  
24. „ tot  
„ D<sup>118</sup>: Kaninchen No. 1888, 1000 g, erhielt am 18. Nov. 0,5 ccm intravenös  
22. „ Paralyse d. hint. Extremit.  
23. „ tot  
„ E<sup>65</sup>: „ „ 513, 1000 g, „ „ 18. „ 0,5 ccm intravenös  
24. „ tot  
„ H<sup>39</sup>: „ „ 85, 1000 g, „ „ 18. „ 0,5 ccm intravenös  
23. „ tot  
„ H-Hallmann: Kanin. No. 139, 1000 g, „ „ 18. „ 0,5 ccm intravenös  
24. „ tot

Die Sektionsbefunde aller Tiere zeigten neben starker Abmagerung ähnliche Bilder, wie man sie bei Injektion mit Dysenterietoxinen sieht, welche mit Shiga-Stämmen erzeugt sind: starke Injektion der Mesenterialvenen, Hyperämie der Darmschleimhaut, Hervortreten der Peyer-schen Plaques, die Dickdarmschlingen oft, aber nicht immer mit flüssigem Stuhle gefüllt, zuweilen auch die Dünndarmschlingen. Geschwüre wurden nie beobachtet.

Die Giftigkeit der Toxine (Bouillonkulturfiltrate) scheint der Giftigkeit der Kulturen selbst (Kochsalzabschwemmungen) parallel zu gehen. Als stärkste Toxinbildner erwiesen sich dementsprechend die Stämme D<sup>118</sup> und H<sup>39</sup>, am schwächsten war das Toxin A<sup>115</sup>. Versuche, durch Aenderung der Alkaleszenz der verwendeten Bouillon die Toxinbildung zu steigern, ergaben, daß die gewählte Bouillon, welche nach der Neutralisation gegen Lackmus einen Zusatz von 6 ccm n-Sodalösung pro Liter enthielt, zur Toxinbildung am besten geeignet war. Ein Versuch, durch einen größeren Alkaligehalt, 9 ccm n-Sodalösung pro Liter, ein

stärkeres Toxin zu erhalten, zeigte, daß die Toxinbildung im höheren Alkaligehalt eher etwas schwächer war:

Toxin D<sup>118</sup> (alkal.): Kaninchen No. 391, 900 g, erhielt am 18. Nov. 0,45 ccm intravenös  
25. „ tot (starke Abmagerung)

In lackmusneutraler Bouillon wurde, trotz üppigen Wachstums, kein Toxin erhalten. Durch langes Lagern verliert das Toxin allmählich, ähnlich wie das Dysenterietoxin der Shiga-Kruse-Gruppe, an Wirksamkeit, geht auch gelegentlich sprunghaft zurück. Auf 100° erhitzte Bouillonkulturfiltrate sind unwirksam.

Wir hatten auch Gelegenheit, die Empfindlichkeit von Meerschweinchen und Ziegen gegenüber den in Rede stehenden Toxinen kennen zu lernen. Meerschweinchen sind gegen große Dosen (5 ccm) intraperitonealer Injektion unempfindlich. Ebenso wurden intravenöse Injektionen glatt vertragen: Meerschweinchen, 400 g, erhält 0,8 ccm Toxin D<sup>118</sup> intravenös (V. jugularis), überlebt ohne Erscheinungen.

Ratten zeigten sich empfindlich, wenn auch nur wenig: Einer Ratte werden 0,5 ccm des Toxins D<sup>118</sup> intraperitoneal injiziert. Tod nach 14 Tagen. Darm wenig gerötet, ödematös.

Ziegen sind sehr empfindlich: Eine Ziege von 15 kg erhielt am 30. Nov. 3 ccm Toxin D<sup>118</sup> (Kulturfiltrat vom 21. Okt.) um 9 Uhr früh intravenös, abends 5 Uhr Strecklähmung der hinteren Extremitäten, Exitus etwa 9 Stunden nach der Injektion. Sektionsbefund: starke Rötung der Darmschleimhaut, starke Injektion der Peyerschen Plaques, die stellenweise außerordentlich stark hervortraten, zahlreiche Blutungen der Darmwand.

Um die Toxinnatur des in Rede stehenden Bakteriengiftes zu erweisen, wurden zunächst Kaninchen injiziert, welche aber nur sehr schwach wirksame Antitoxine lieferten, welche in den angewandten Mengen (0,5 ccm pro Kilogramm Kaninchen) nicht imstande waren, den Tod der Tiere zu verhindern. Die Injektionen wurden stets getrennt in die beiden Ohrvenen der Kaninchen vorgenommen, wobei 1 kg Kaninchen je 0,5 ccm Toxin und 0,5 ccm Immunserum erhielt:

Kaninchen No. 1210, 1000 g, erhält am	31. Jan. 1917 0,5 ccm Toxin D <sup>118</sup> intravenös
	1. Febr. vordere Extremitäten paretisch
	2. „ tot
„ „ 375, 1100 g, „ „	3. Febr. 1917 0,55 ccm Toxin D <sup>118</sup> intravenös
	4. „ krank
	5. „ tot
„ „ 52, 1250 g, „ „	3. Febr. 1917 0,625 ccm Toxin D <sup>118</sup> in die rechte Ohrvene und 0,625 ccm Kanin-Immunserum D <sup>118</sup> in die linke Ohrvene
	4. Febr. gesund
	5. „ „
	6. „ „
	7. „ krank
	8. „ tot

Es war also der Tod in diesem Falle wohl verzögert worden, jedoch keine volle Immunität zu erzielen gewesen. Ein ganz ähnliches Resultat wurde bei der Verwendung der übrigen Toxine der uns zur Verfügung stehenden Stämme A—H Kruse und ihrer von Kaninchen gewonnenen Antitoxine erhalten. Es wurde deshalb ein Antitoxin von der Ziege hergestellt, welcher etwa durch 2 Monate steigende Mengen des Toxins D<sup>118</sup> injiziert wurden. Das Serum erwies sich als wirksames

**Antitoxin.** Ein Kontrollversuch mit normalem Ziegenserum sowie mit dem Serum einer gegen das Toxin des Shiga-Kruse-Typus immunisierten Ziege zeigte die völlige Unwirksamkeit nicht nur normalen Ziegensersums, sondern auch des gegen das Toxin des *B. dysenteriae* Shiga-Kruse gerichteten Antitoxins gegenüber dem Toxin des Kruseschen Stammes D<sup>118</sup>:

Kaninchen No. 1369, 1000 g, erhält am	23. März 1917	0,5 ccm Toxin D <sup>118</sup>	intravenös
	24. „	tot	
„ „ 1908, 1000 g, „ „	23. „	0,5 ccm Toxin D <sup>118</sup>	intravenös
	24. „	krank	
	25. „	tot	
„ „ 1581, 1000 g, „ „	23. März 1917	0,5 ccm Toxin D <sup>118</sup>	intravenös
	24. „	krank	
	25. „	tot	
„ „ 618, 1000 g, „ „	26. März	0,5 ccm Toxin D <sup>118</sup> in die l. Ohrvene u. 0,5 ccm Ziegenserum „ „ r. „	
	27. März	gesund	
	28. „	krank	
	29. „	tot	
	30. „	tot	
Kaninchen No. 1901, 1000 g, erhält am	26. März	0,5 ccm Toxin D <sup>116</sup> in die linke Ohrvene und 0,5 ccm Shiga-Serum (Ziege) i. d. r. Ohrvene	
	27. „	krank	
	28. „	Paresen	
	29. „	tot	
Kaninchen No. 1894, 1000 g, erhält am	26. März	0,5 ccm Toxin D <sup>118</sup> in die linke Ohrvene und 0,5 ccm Antitoxin D <sup>118</sup> (Ziege) i. d. r. Ohrvene	
	27.—31. März	gesund	
		Das Tier bleibt dauernd ge- sund und überlebt.	

Ueber weitere Untersuchungen der entsprechenden antitoxischen Sera und ihre Wirkungen auf die Toxine soll später berichtet werden.

### Zusammenfassung.

Die von Kruse und seinen Mitarbeitern gezüchteten und beschriebenen Dysenteriekulturen A<sup>115</sup>, A-Breidenbach, D<sup>118</sup>, E<sup>65</sup>, H<sup>89</sup>, H-Hallmann erzeugen in Bouillonkulturen ein durch Tonfilter filtrierbares, hitzeunbeständiges Toxin.

Diese Toxine rufen bei Kaninchen ähnliche Erscheinungen hervor wie das Toxin des Typus Shiga-Kruse, meist entzündliche Erscheinungen im Darm (ohne Geschwürsbildung), zuweilen Paresen. Große Empfindlichkeit zeigen auch Ziegen bei intravenöser Injektion, weniger empfindlich sind Ratten gegen intraperitoneale Injektion, unempfindlich sind Meerschweinchen sowohl gegen intravenöse wie gegen intraperitoneale Injektion.

Durch Injektion steigender Dosen lassen sich mit diesen Toxinen Antitoxine gewinnen, welche bei getrennter intravenöser Injektion die Giftwirkung des Toxins vollständig aufzuheben imstande sind. Das Anti-

toxin, das durch Injektion des Shiga-Kruse-Toxins gewonnen wird, ist gegen das Toxin des Stammes D<sup>118</sup> Kruse unwirksam.

Da die Kruseschen Stämme A-H aus Mannit Säure bilden und auch durch Agglutination von dem Typus B. dysenteriae Shiga-Kruse scharf zu trennen sind, andererseits aber, ebenso wie dieser, Toxin bilden, welches durch das Antitoxin des Typus Shiga-Kruse nicht neutralisiert wird, läßt sich die bisherige Einteilung in 2 Gruppen: giftbildende und giftarme, nicht mehr aufrechterhalten, und es würde sich als wissenschaftliche Bezeichnung der Name B. dysenteriae, typus non acidificans, für die Gruppe des Typus Shiga-Kruse gegenüber der Gruppe B. dysenteriae, typus acidificans, empfehlen. Diese letztere Gruppe umfaßt sowohl die Stämme A—H Kruse, als auch die anderen nicht Toxin bildenden Varietäten, welche als B. dysenteriae Flexner, Y usf. bezeichnet zu werden pflegen. Ob für diese der Name B. pseudodysenteriae Kruse noch aufrechterhalten werden kann, soll hier nicht weiter erörtert werden.

*Nachdruck verboten.*

## Rauschbrand- und Bradsot-ähnliche Krankheit der Schweine.

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Serumgesellschaft „Phylaxia“ in Budapest (Vorstand: Prof. Dr. F. v. Huttyra).]

Von Dr. J. Köves, Leiter des Laboratoriums.

Mit 5 Tafelbeilagen.

In einer vorläufigen Mitteilung in No. 8, Jahrg. 1914 der Berliner Tierärztlichen Wochenschrift habe ich bereits über Befunde bei einer Krankheit der Schweine berichtet, die bisher teils unbekannt war, teils mit dem Rauschbrand verwechselt wurde, nach den Ergebnissen meiner Untersuchungen aber als von diesem verschieden und als selbständiger Krankheitsprozeß aufgefaßt werden muß. Zuzufolge äußerer Umstände und namentlich meiner Teilnahme am Felddienste bin ich erst jetzt in der Lage, diese Auffassung durch Obduktionsbefunde und bakteriologische Untersuchungsergebnisse eingehend zu begründen.

Es handelt sich, wie gesagt, um eine Krankheit, die, nach den klinischen Erscheinungen und anatomischen Veränderungen, mit dem echten Rauschbrand vielfache Ähnlichkeiten aufweist und in der Vergangenheit auch unter diesem Namen beschrieben wurde, tatsächlich ist aber das Vorkommen des echten Rauschbrandes bei Schweinen zurzeit noch nicht mit voller Sicherheit dargetan.

Wohl gelang es Rätz, im Gegensatz zu 2 negativen Impfergebnissen von Glässer, durch intramuskuläre Einverleibung von Rauschbrandmaterial aus einem kranken Rinde 2 von 7 Ferkeln tödlich zu infizieren und die übrigen vorübergehend krank zu machen; diese Versuchsergebnisse gestatten jedoch keine Schlußfolgerungen auf die Möglichkeit von Erkrankungen auf natürlichem Wege und besonders zuzufolge Ansteckungen per os. Ebensowenig beweisen die bisherigen Beobachtungen das Vorkommen des echten Rauschbrandes bei Schweinen unter natürlichen Verhältnissen.

So fand Marek in 2 Fällen mit seröser Infiltration der Rachengegend sowie braunroter Verfärbung und schwammiger Konsistenz der Halsmuskulatur im Muskelsafte sporenhaltige und sporenlose, rauschbrandähnliche Bazillen, in Lymphknoten und in einzelnen Muskelpartien des einen Tieres aber gleichzeitig auch längere Fäden, wie solche beim malignen Oedem vorzukommen pflegen. In einem dritten Falle waren, bei sonst ähnlichem makroskopischen Befund, ausschließlich sporenhaltige und sporenlose Bazillen vorhanden; verriebenes krankes Muskelmaterial erzeugte bei 2 Kaninchen eine knisternde Anschwellung an der Impfstelle und führte nach 3 Tagen den Tod der Versuchstiere herbei.

Offenbar vom Rauschbrand verschieden waren 2 von Born beschriebene Fälle, wo im Muskel- und Bindegewebsafte der, übrigens ziemlich ausgedehnten, knisternden Geschwülste neben zum Teil sporenhaltigen Bazillen und Bazillenketten, auch lange Fäden vorhanden waren und solche auch im subkutanen Bindegewebe eines Kaninchens, das nach der Impfung mit Material vom zweiten Schweine tödlich erkrankte, nachgewiesen werden konnten.

Balás fand bei einem notgeschlachteten Schweine hochgradige seröse Infiltration mit Gasbildung in der Subcutis des Unterbauches und des Gesäuges, in der Serosität aber rauschbrandähnliche Bazillen. Damit geimpfte Meerschweinchen sind tödlich erkrankt; außerdem gelang es Rätz mit demselben Material, ein Ferkel zu infizieren. Mangels einer eingehenden bakteriologischen Untersuchung läßt sich über die Zugehörigkeit der Bazillen nichts Näheres sagen. Noch weniger klargelegt ist der Fall von Willerding, wo die Milz und die Leber zahlreiche Gasblasen enthielt und einzelne Muskelgruppen dunkelrot waren und knisterten; dagegen bezeichnet Bahr seinen Fall selbst als malignes Oedem, da die herausgezuchteten Bazillen dieselben Zuckerarten vergärten, wie manche Stämme von Bazillen des Rauschbrandes, des malignen Oedems, der Bradsot und des Pseudorauschbrandes. Ebenso erscheint auch in dem Falle von Foth die Rauschbranddiagnose allein durch das Vorhandensein von rauschbrandähnlichen Bazillen in den schwarz verfärbten Muskelpartien nicht hinreichend gesichert, und das Gleiche gilt auch von Battistinis Fall, wo neben Erscheinungen einer Magendarmentzündung der linke Hinterfuß rasch angeschwollen ist und die knisternde Schwellung sich auf den Unterbauch ausgebreitet hat, während die mikroskopische Untersuchung in der schwärzlich verfärbten Muskulatur zahlreiche, den Rauschbrandbazillen ähnliche Bakterien nachgewiesen hat.

Eingehende bakteriologische Untersuchungen aus den letzten Jahren ergaben neue Gesichtspunkte für die Unterscheidung der Rauschbrandbazillen von den Oedembazillen, außerdem zeigten sie, daß, namentlich unter der letzteren Benennung, mehrere Unterarten zusammengefaßt wurden, die sich durch hinreichend charakteristische Merkmale kennzeichnen. Eine Zeitlang legte man Gewicht auf die Lagerung der Sporen im Bazillenleibe, indem die Spore beim Rauschbrandbacillus endständig, beim Oedembacillus dagegen mittelständig sein sollte. Wie wenig jedoch die Auffassungen diesbezüglich übereinstimmen, ergibt sich schon daraus, daß Hibler beim Oedembacillus die Spore häufig an dem einen Pol gelagert fand, und daß Kolle und Hetsch sogar für diesen Bacillus diese Lagerung der Spore als typisch bezeichnen und demgemäß abbilden.

Wohl unwidersprochen ist die Ansicht, daß der Rauschbrandbacillus niemals zu längeren Fäden auswächst, wenig charakteristisch dagegen ist die Fadenbildung für den Bacillus des malignen Oedems, da zurzeit schon mehrere fadenbildende, anaerobe Bakterien bekannt sind, die, vermöge sonstiger Eigenschaften, von dem echten Oedembacillus abgetrennt werden müssen.

Endlich können auch Tierversuche keinen sicheren Aufschluß über die Zugehörigkeit der einzelnen Arten erteilen, weil, im Gegensatz zur früheren Auffassung, auch mit dem Rauschbrandbazillus, wenn auch nicht so regelmäßig wie mit dem Oedembacillus, nicht nur Meerschweinchen, sondern auch Kaninchen, Tauben und Schweine mit Erfolg krank gemacht werden können.

Die Kenntnisse über die hier in Rede stehenden anaeroben Bakterien wurden in neuerer Zeit durch die Arbeiten von Ghon und Sachs (1913) und von Hibler (1908) bedeutend vertieft und erweitert.

Ghon und Sachs berichten über die Krankheit eines 48 Jahre alten Mannes, bei dem sich, im Anschluß an mehrtägige Schmerzen in der Blinddarmgegend, plötzlich am rechten Schenkel eine knisternde Geschwulst entwickelte, die sich rasch ausbreitete und binnen 12 Stunden den Tod herbeiführte. Im Bereiche der Geschwulst war die Haut bläulichrot, ihr Epithelüberzug löste sich in großen Fetzen ab oder wurde durch blutig-seröses Exsudat blasenförmig abgehoben. Das subkutane Bindegewebe war blutig infiltriert und von Gasbläschen durchsetzt. Die Muskulatur schien wie gekocht und enthielt ebenfalls zahlreiche Gasbläschen. Die Erkrankung wurde durch den Durchbruch eines carcinomatösen Geschwürs des Blinddarms verursacht.

Ta  
Zusammenfassung der Hibler

Bezeichnung	Name der untersuchten Bakterienstämme	Zahl	Morphologische Eigenschaften der Bakterien			
			Fadenbildung	Geblähte Formen	Sporen	Geißeln
I.	Rauschbrand	8	.	+++	+	+
II.	<i>Bacillus phlegmones emphysematosae</i> (Fraenkel)	28	.	.	.	.
III.	Ghon-Sachsscher <i>Bacillus</i>	7	+	++	+	+
IV.	<i>Bacillus enteritidis sporogenes</i> (Klein)	1	.	+++	+	+
V.	Novys <i>Bacillus oedematis maligni</i> II	4	.	+	.	+
VI.	Rauschbrandähnliches Bakterium	1	.	+++	+	+
VII.	"	1	.	.	+	+
VIII.	<i>Bacillus amylobacter</i>	3	.	.	+	+
IX.	Dem <i>Bacillus amylobacter</i> ähnliches, nichtpathogenes Bakterium	1	.	.	+	+
X.	<i>Bacillus oedematis maligni</i> (Koch)	3	+	selten	+	+
XI.	Dem <i>Bacillus oedematis maligni</i> ähnliches Bakterium	1	.	"	+	+
XII.	<i>Bacillus tetani</i>	21	.	"	+	+
XIII.	<i>Bacillus botulinus</i>	3	.	.	+	+
XIV.	<i>Bacillus cadaveris sporogenes</i> (Klein)	6	.	.	+	+
XV.	Ein Eiweißfäulnis erregender <i>Bacillus</i>	1	.	.	+	+

In der erkrankten Muskulatur fanden sich zahlreiche, verschieden lange, teils sporenhaltige, teils sporenlose, grampositive Stäbchen, sowie verschieden lange Fäden, und ähnliche sporenhaltige Bazillen konnten auch im Darminhalte nachgewiesen werden. Ihre Züchtung gelang unter anaëroben Bedingungen, wobei die Reinkulturen neben verschieden langen Stäbchen auch „Distomenformen“ enthielten, die sich nur schwach oder nur in einzelnen Teilen färben ließen; auch unter den Bazillen befanden sich solche, die die Gramfärbung nicht annehmen.

Auf Agar und erstarrtem Blutserum entwickelten sich bläuliche, runde, gelappte, stern- oder knochenzellenförmige sowie baumförmig verzweigte Kolonien, die knochenzellenförmigen gewöhnlich mit dichterem Zentrum. Bouillon wurde anfangs gleichmäßig getrübt, später wurde sie klar, während die Bakterienmassen zu Boden sanken. In zuckerhaltigen Nährböden fand Gasbildung statt; Milch wurde ohne Fäulnisgeruch zur Gerinnung gebracht.

Von Versuchstieren zeigte sich das Meerschweinchen, die Maus und die Taube empfänglich, dagegen erzeugte die subkutane Impfung beim Kaninchen nur eine lokale Reaktion. Durch intravenöse Infektion wurde ein Kaninchen getötet. Meerschweinchen erlagen auch der Behandlung mit bakterienfreien Kulturfiltraten.

Auf Grund von Vergleichen mit den bis dahin bekannten anaëroben Bakterien gelangten die Autoren zu der Schlußfolgerung, daß das von ihnen untersuchte Bakterium dem Kochschen *Bacillus* des malignen Oedems am nächsten steht, sich aber immerhin von diesem in einigen Eigenschaften unterscheidet.

v. Hibler beschreibt in seinen „Untersuchungen über die pathogenen Anaëroben etc.“ 15 anaërobe Bakterienarten und von mehreren davon mehrere Stämme. Ihre wichtigsten Merkmale habe ich in der Tabelle I zusammengestellt.

Das wichtigste Ergebnis der eingehenden und weitläufigen Untersuchungen von Hibler besteht darin, daß es ihm gelungen ist, die pathogenen, anaëroben Bakterien auf biologischer Grundlage in 2 Gruppen zusammenzufassen, wovon die eine durch Säurebildung im Hirnbrei, die andere dagegen durch Alkalibildung in demselben Nährboden gekennzeichnet wird. Die Alkalibildung gibt sich in Schwarzfärbung des Hirnbreies kund, indem die betreffenden Anaëroben Schwefelhydrogen produzieren, der sich



## schen Untersuchungsergebnisse.

[illegible]

Hibler fand 6 Stämme, die hinsichtlich ihrer biologischen Eigenschaften mit dem Bacillus von Ghon und Sachs übereinstimmten, dagegen vom Oedembacillus verschieden waren. 4 Stämme wurden aus Menschenmaterial, 2 aus erkrankten Muskeln von Rindern isoliert.

Markoff untersuchte Anaeroben aus verschiedenen Tiergattungen und fand 3 Stämme, die bei Züchtung in Milch und in Hirnbrei weder mit dem Rauschbrand, noch mit dem Oedembacillus identisch waren, immerhin bei Immunisierungsversuchen und bei der Agglutinationsprobe sich als dem letzteren nahe verwandt erwiesen haben. Markoffs Angaben habe ich in der Tabelle II übersichtlich zusammengestellt.

Regn fand bei der Untersuchung verschiedener Rauschbrandmuskelpulver und Impfstoffe 2 Proben, nach deren Verimpfung sich bei Meerschweinchen auf der Leberoberfläche lange Fäden entwickelten; durch daraus hergestellte Reinkulturen wurde aber der Hirnbrei nicht geschwärzt. Ähnlich verhielt sich eine Reinkultur aus einer Kuh sowie eine andere Kultur, die aus einem ersten Lyoner Rauschbrandimpfstoff gezüchtet wurde.

Nach Wulff empfiehlt es sich, rauschbrandkranke Muskeln nicht in frischem Zustande zu untersuchen, sondern nach raschem Trocknen zu pulverisieren, vom trockenen Pulver 0,1 g in 1,0 ccm sterilem Wasser zu verreiben und die Suspension 5 Minuten lang auf 65° C zu erhitzen. Hierauf spritze man von der Suspension Meerschweinchen 0,2 ccm, anderen Versuchstieren 0,5 ccm in die Muskulatur. In der frischen Muskelsubstanz sollen nämlich verschiedene, für Kaninchen und Ratten pathogene Bakterien vorhanden sein, die zu irrthümlichen Schlußfolgerungen Veranlassung geben können. Seine eigenen Impfversuche mit unerhitztem und mit erhitztem Rauschbrandmaterial ergaben folgende Resultate:

Ta  
Zusammenfassung der Ver

Gruppe	Stamm	Gewonnen aus	Form	Kulturen in			
				Agar	Hirnbrei		Milch
					Reaktion	Färbung	
Geburtsrauschbrand	A	Kuh	Stäbchen	.	sauer	unverändert	keine Gerinnung; sauer
	B	"	Fäden	viel geruchloses Gas	alkalisch	Schwärzung	Gerinnung, langsame Peptonisierung; alkalisch
	D	"	"	wenig Gas mit Käsegeruch	sauer	unverändert	Gerinnung; sauer
	E	"	"	dgl.	"	"	dgl.
Rauschbrand	1.	Rind	Stäbchen	wenig geruchloses Gas	"	"	langsame Gerinnung
	2.	Schaf	"	dgl.	"	"	dgl.
	3.	"	"	dgl.	"	"	dgl.
	4.	"	"	dgl.	"	"	dgl.
	5.	Rind	"	dgl.	"	"	dgl.
Fadenbakterium	I.	Reh	Fäden	viel Gas mit Buttersäuregeruch	"	"	keine Gerinnung; sauer
	II.	Rind	"	viel geruchloses Gas	alkalisch	Schwärzung	Gerinnung und Peptonisierung; alkalisch
	V.	geimpfter Taube	"	dgl.	"	"	dgl.

Tiergattung	Nicht erhitztes Material		Erhitztes Material	
	geimpft	davon gestorben	geimpft	davon gestorben
Meerschweinchen	5	5	5	5
Ratte	10	6	10	—
Taube	8	6	10	—
Kaninchen	8	6	10	—
Huhn	6	1	10	—

Nach Foths Erfahrungen bilden Rauschbrandbazillen niemals Fäden; nichtsdestoweniger konnte er aus Rindermuskeln mit auf Rauschbrand hinweisenden Veränderungen mehrere Stämme isolieren, die bei etwa 190 Meerschweinchen auf deren Bauchfell stets zu Fäden ausgewachsen sind und diese Eigenschaft auch nach Durchleitung durch den Rinderkörper beibehalten haben.

Pferde scheinen gegen den Rauschbrand immun zu sein; trotzdem kommen aber bei dieser Tiergattung rauschbrandähnliche Erkrankungen vor, deren Erreger sich jedoch vom echten Rauschbrandbacillus in mehrfacher Beziehung unterscheiden.

Hibler ist übrigens der Ansicht, daß der Ghon-Sachssche Bacillus seine Fähigkeit, trotz Fadenbildung Säure zu produzieren, wahrscheinlich im Laufe der künstlichen Züchtung im Laboratorium erworben hat, denn er fand in keinem Falle einen fadenbildenden Anaëroben, der sich in einer so wichtigen Eigenschaft vom Kochschen Oedembacillus unterschieden hätte.

### Eigene Untersuchungen.

Meine Erfahrungen beziehen sich auf 26 Erkrankungsfälle, die ich in den Jahren 1909—1914 beobachtet und eingehend untersucht habe.

Diese Fälle lassen sich, trotz der einheitlichen ätiologischen Grundlage, je nach den Krankheitserscheinungen und dem Sitze der anatomi-

belle II.

suchsresultate von Markoff.

Versuchstiere verendet nach wieviel Stunden?				Bakterien- form am Peri- toneum des Meer- schweins	Immunisieren die Sera der Bakterien- stämme?				Agglutiniert durch Stamm			
Kanin- chen	Meer- schwein	Taube	Maus		A	B	D	Rausch- brand	A	B	D—E	Rausch- brand
—	26, 18, 24, 21	48	.	Stäbchen	+	.	—	++	+	.	.	+
—	14, 17, 21	18, 48	.	Fäden	—	—	±	.	4000	+	+	3840
—	17, 18, 38	23	23, 25	„	—	++	++	.	.	+	++	.
—	21, 27	—	18, 48	„	—	.	++	—	.	+	20 480	.
—	27, 32	.	.	Stäbchen	++	—	—	±	.	.	.	.
—	18, 25	.	.	„	++	—	—	.	.	?	?	++
—	19	.	.	„	++	—	—	.	2560	30	40—60	.
—	23, 48	—	.	„	++	—	—	.	.	.	.	.
manche	nur alte	manche	manche	„	++	—	—	.	.	.	.	.
16	16, 19, 21	14	17	Fäden	—	.	±	.	.	—	.	.
21, 22	27	.	18, 32	„	—	++	++	—	.	.	+	.
.	21, 22	22	18, 24	„	.	—	—	.	.	.	+	.

schen Veränderungen, in 2 Gruppen zusammenfassen. In die erste Gruppe gehören jene Fälle, die sich durch krankhafte Veränderungen der Haut, des Unterhautbindegewebes und hauptsächlich der Muskulatur kennzeichnen und hiernach große Aehnlichkeit mit dem Rauschbrand darbieten. In die zweite Gruppe lassen sich die Fälle einreihen, wo die Läsionen sich fast ausschließlich auf die Magenwand lokalisieren, wohingegen die Haut, die Subcutis und die Muskulatur gesund erscheint; diese Fälle weisen manche Analogien mit der Bradsot der Schafe auf.

Die Erkrankungen der ersten Gruppe gelangen in großen Beständen gewöhnlich sporadisch zur Beobachtung; nur ausnahmsweise folgen mehrere Fälle in einer Herde in kurzen Zeiträumen aufeinander (so die Fälle VI—IX binnen 4 Tagen). Ueber das Vorkommen der Krankheit ist zurzeit wenig bekannt, immerhin scheint sie durchaus nicht selten und auf verschiedenen Gebieten vorzukommen. Ich selbst habe sie ohne Ausnahme in den Mastbeständen in Kőbánya beobachtet, und auch Marek hat seine 3 Fälle hier konstatiert; die Fälle von Born und Balás ereigneten sich in der Provinz, über andere wurde aus Deutschland, Holland und Italien berichtet (s. oben Literaturübersicht).

Die eigenartige Erkrankung der Darmwand (2. Gruppe) ist bisher nicht beschrieben worden. Unter den weiter unten angeführten Fällen befinden sich 11 (No. XVI—XXVI), die hierher gehören; doch sah ich außerdem in früheren Jahren noch mehrere, die ich aber damals noch als Schweinepest aufgefaßt habe, da sie bei für diese Krankheit empfäng-

lichen Schweinen und gleichzeitig mit typischen Pestfällen angetroffen wurden. Hierfür sprach auch der Umstand, daß die kranke Magenschleimhaut gewöhnlich mit diphtheritischen Auflagerungen belegt war, und daß mehrfach gleichzeitig auch für die Pest charakteristische Veränderungen vorhanden waren. Immerhin kamen auch einzelne Fälle vor, wo auffälligerweise ausschließlich die Magenschleimhaut erkrankt befunden wurde.

Auf die Krankheit wurde auch nach Abschluß der Untersuchungen ein besonderes Augenmerk gerichtet, und inzwischen hat sich die Zahl der beobachteten Fälle bedeutend erhöht. So wurden von Mitte 1914 bis Mitte 1916 allein in einem Hofe der Schweinemastanstalt Kőbánya, wo in kurzen Zeiträumen immer wieder frische Schweineherden eingestellt werden, 61 Fälle beobachtet. In 40 Fällen zeigte der Magen die charakteristischen Veränderungen, in 20 Fällen waren Muskulatur und Subcutis eines Körperteiles, in einem Falle gleichzeitig der Magen, das Bindegewebe und die Muskeln des linken Vorderfußes ergriffen.

In diesem Hofe waren 2 Schweinebestände besonders stark infiziert, so daß in den einzelnen Gruppen von je 100—200 Stück gewöhnlich 3—4 und sogar auch 7—8 Erkrankungen vorkamen. Magen- und Muskelveränderungen wechselten ab; nicht selten konnte in derselben Herde am selben Tage bei einem Schweine eine Erkrankung des Magens, bei einem anderen Muskelentzündung konstatiert werden.

In anderen Gehöften der Schweinemastanstalt sind während des erwähnten Zeitraumes ebenfalls mehrere, meist jedoch nur sporadische, Erkrankungen beobachtet worden. In einem Falle nahm die Krankheit unter den Schweinen einer Herde einen bösartigen Verlauf. Die Tiere erkrankten so rasch nacheinander, daß die Seuche anfangs als Schweinepest aufgefaßt wurde. Die betreffenden Schweine sind mit verdorbenen Küchenabfällen und Rindsmägen gefüttert worden; die Infektion wurde daher höchst wahrscheinlich durch dieses Futter vermittelt. Hier war sowohl der Magen als auch die Muskulatur erkrankt.

Hiernach wurden krankhafte Veränderungen vorgefunden:

in Gruppe A in der Muskulatur und im angrenzenden Bindegewebe	
im Falle VI und XII	in der Rachen- und Kehlgangengegend,
" " IV	in den Halsmuskeln,
" " I und V	am linken Vorderfuß,
" " III, VIII, X und XI	am rechten Vorderfuß,
" " II	am rechten Hinterfuß,
" " VII und XIII	am linken Hinterfuß,
" " IX	am Rücken und in der Lumbal- und Kreuz- und Beckengegend.
" " XIV und XV	an den Schenkeln und am Bauche;
in Gruppe B Erkrankung der Magenwand:	in den Fällen XVI—XXVI.

Die Muskelveränderungen in den Fällen I—XV sind sehr charakteristisch und, obwohl je nach dem Grade der Entwicklung verschieden, dem Wesen nach identisch. Sie schließen sich eng denjenigen an, die von Marek, Born und Willenberg beschrieben worden sind. Auch die bakteriologischen Befunde stimmen mit jenen von Marek überein, da auch ich in den veränderten Muskelpartien neben sporenlosen und sporenhaltigen Bazillen zumeist auch mehr oder weniger lange Fäden gefunden habe.

Die Erkrankungen der Gruppe A äußern sich nur in jenen Fällen in augenfälligen Erscheinungen, wo nahe der Körperoberfläche gelegene Muskelgruppen ergriffen sind. Dann läßt sich an der betreffenden Körperstelle eine diffuse, schmerzhaft, alsbald auf Druck knisternde

Anschwellung wahrnehmen, in deren Bereiche die Haut bläulichrot oder dunkelrot verfärbt und von der gesunden Umgebung scharf demarkiert erscheint. Bei in der Agonie getöteten und hierauf abgebrüteten Tieren macht man zuweilen die Wahrnehmung, daß an der betreffenden Hautstelle die Borsten, trotz wiederholtem Abbrühen, fest sitzen bleiben und sich auch mit dem Schabeisen kaum entfernen lassen. Die darunter liegende Speckschicht pflegt schmutzigrot verfärbt zu sein. Weiter nach innen findet man das Bindegewebe auf 0,5—2,0 ccm verbreitert und mit einer klaren, gelblichen oder rötlichgelben, serösen Flüssigkeit durchtränkt. Diese seröse Infiltration fehlt an Körperstellen, wo die Haut der Unterlage fest anliegt, so beispielsweise in der Nackengegend und den Rücken entlang (s. Tabelle III).

Die Muskulatur hat, je nach dem Entwicklungsgrade der Veränderungen, von Fall zu Fall ein verschiedenes Aussehen. In sehr akuten Fällen findet man die betroffenen Muskelpartien mit dunkelrotem oder schwarzrotem Blut durchtränkt, mitunter derart, daß sie eher einem Blutkoagulum, als einer Muskelsubstanz ähnlich sehen und die Muskelstruktur nur bei näherer Besichtigung und am ehesten noch auf Querschnitten erkannt wird. Uebrigens entspricht die schwarze Masse stets einem Muskelbauch oder einem Teil desselben und erscheint gegen die Umgebung scharf abgegrenzt (s. Tabelle IV unten).

In anderen Fällen ist die erkrankte Muskelpartie hellrot oder dunkelrot, mäßig durchfeuchtet, faserig, zerreißlich und von mehr oder weniger zahlreichen Gasbläschen durchsetzt. Falls deren Zahl sehr groß ist, zeigt der Muskel ein schwammiges Aussehen. Das intermuskuläre Bindegewebe pflegt wenig oder auch gar nicht verändert zu sein (s. Tabelle IV oben).

Endlich kommen Fälle vor, wo die Muskeln auffallend blaß oder fahlgelb, dabei trocken zerreißlich oder brüchig und, zufolge zahlreicher Gasbläschen, von schwammiger Konsistenz erscheinen.

In den inneren Organen findet man bestenfalls Gasbläschen in der Lebersubstanz; außerdem kann ihr Parenchym fleckweise oder in größerer Ausdehnung lichtgelb verfärbt sein. Die in dem Bereiche der erkrankten Partie liegenden Lymphdrüsen sind bedeutend geschwollen, schwarzrot, manchmal ziegelrot, oft mit Gasbläschen durchsetzt.

Die Erkrankungen der Gruppe B, wo sich die krankhaften Veränderungen auf den Magen beschränken, äußern sich nur in Abstumpfung und unterdrückter Freßlust. Bei der Zerlegung des Kadavers fällt sofort die starke Gefäßinjektion des Bauchfells im Bereiche des Magens, zuweilen aber auch an der Bauchwand und über den Gedärmen auf, außerdem können die Darmschlingen durch feine Fibrinmembranen verklebt sein. Am serösen Magenüberzug findet man manchmal stellenweise auch zahlreiche, kleine Blutungen, die, mitsamt den stark injizierten Blutgefäßen, die betreffenden Stellen lebhaft rot oder dunkelrot erscheinen lassen. Durch die Palpation der Magenwand läßt sich deren Verdickung und eigentümlich gummiartige Konsistenz konstatieren. Tatsächlich ist die Magenwand und besonders ihre Muskelschicht in verschieden großer Ausdehnung auffallend verdickt und serös infiltriert; gleichzeitig fühlt man darin beim Betasten Gasbläschen, und solche enthält in verschieden großer Zahl auch die rötliche Flüssigkeit, die sich über die Schnittfläche ergießt. Die Submuscularis ist derart serös infiltriert, daß sie stellenweise eine Dicke von 1—2 cm erreicht und sich nur allmählich gegen die gesunde Umgebung abflacht. Die Schleimhaut

erscheint stellenweise ebenfalls verdickt, dabei schmutzigbraun oder schmutzigbraunrot und hier und da mit schmutziggelben, diphtheritischen Auflagerungen belegt. Sonst findet man ebenfalls nur in der Leber die obenerwähnten Veränderungen (s. Tabelle V).

### **Morphologie und kulturelle Merkmale der Bazillen.**

Die Gestalt der Bakterien, die in den kranken Muskeln und deren Umgebung gewöhnlich in großer Zahl angetroffen werden, zeigt, je nach dem Fundorte, dem Entwicklungsgrade der krankhaften Veränderungen und des seit dem Tode des Tieres verstrichenen Zeitraumes, gewisse Schwankungen. Im rot gefärbten, durchfeuchteten Muskel findet man sie als 2,5–5–8  $\mu$  lange, 0,6–0,88  $\mu$  dicke, sporenlose, an den Enden abgerundete Bazillen, gewöhnlich einzeln oder zu zweien, nicht selten aber auch in 3–6-gliedrigen Kettenverbänden. Mit dem Auftreten und Fortschreiten der Gasbildung sieht man in steigender Anzahl Stäbchen, die in ihrem Mittelteile oder in der Nähe des einen Endes, aber niemals ganz am Pol, je eine ovale Spore enthalten, durch die der Bazillenleib an der betreffenden Stelle zuweilen etwas ausgebuchtet erscheint. Die Sporen sind 1,5–2,5  $\mu$ , selten bis 3  $\mu$  lang und 0,8 bis 1,2  $\mu$  dick (s. Taf. I, Fig. 1 u. 2).

Im Falle IX befanden sich im auffallend trockenen, durch zahllose Gasbläschen stark zerklüfteten Muskel fast ausschließlich Bazillen mit in Entwicklung begriffenen oder fertigen Sporen; außerdem waren auch freie Sporen im Geschwulstsafte eingestreut. Im angrenzenden Bindegewebe pflegt die Zahl der Bazillen bedeutend geringer zu sein; außerdem befinden sich hier auch verschiedenen lange Fäden (s. Taf. I, Fig. 2).

Sowohl die Bazillen als auch die Fäden lassen sich mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen und auch nach der Gramschen Methode leicht und intensiv färben.

Neben sporenlosen und sporenhaltigen Stäbchen kommen stellenweise, besonders in nicht mehr frischen Kadavern, und mitunter auch in überwiegender Zahl „Distomenformen“ (Ghon und Sachs) vor, nämlich in ihrer Mitte oder mehr exzentrisch geschwollene Formen, die sich nur schwach färben und im dünneren Endteil ein sich intensiv färbendes Körnchen enthalten. Auch diese Formen bilden 2–4-gliedrige Kettenverbände. Nach Gram lassen sie sich ebenfalls nicht färben, dagegen nehmen sie auf Behandlung mit Lugolscher Lösung eine eigentümlich braune Färbung an. Von mancher Seite wurde auf das Vorhandensein solcher „geblähter“ Formen, als einen für Rauschbrand charakteristischen Befund, besonderes Gewicht gelegt, und Müller empfahl aus diesem Grunde, die kranken Muskelstücke für 1 oder 2 Tage mit Salz dicht zu bestreuen, in dem dann die „Clostridiumformen“ in größerer Zahl zum Vorschein kommen sollen; Hibler u. a. haben jedoch gezeigt, daß dies mehr oder weniger für alle Anaeroben zutrifft.

Am Bauchfell und am Leberüberzug bilden die Bazillen zumeist längere Kettenverbände; außerdem findet man hier auch lange Fäden. Letztere fehlen aber in nicht mehr frischen Kadavern, da sie mit der eingetretenen Sporenbildung schon zerfallen sind. Ähnlich ist der Befund auch am Herzbeutel, an den Hirnhäuten, weiter sehr oft auf der Pleura und auf der Nierenoberfläche. Aus dem Herzblut und aus der Milz können die Bazillen mit Kulturverfahren fast immer in Reinkultur gezüchtet werden; unter dem Mikroskop sind sie aber manchmal nicht



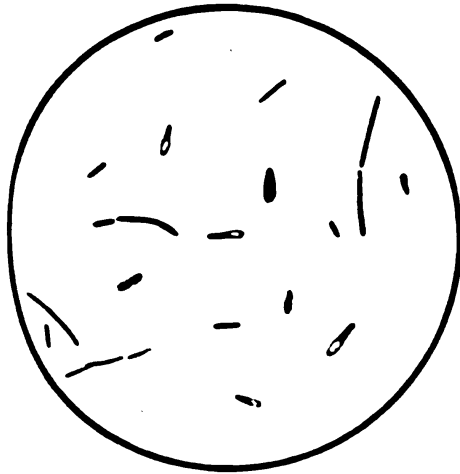


Fig. 1. Sporentragende Bazillen und „Distomenformen“ aus Muskelsaft.

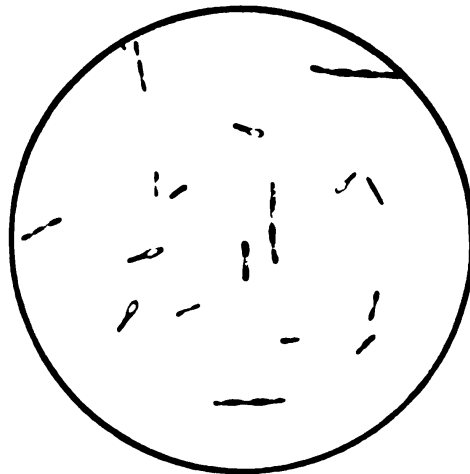


Fig. 2. Sporentragende und ungleichmäßig gefärbte Bazillen aus einer trockenen blassen Muskelpartie.

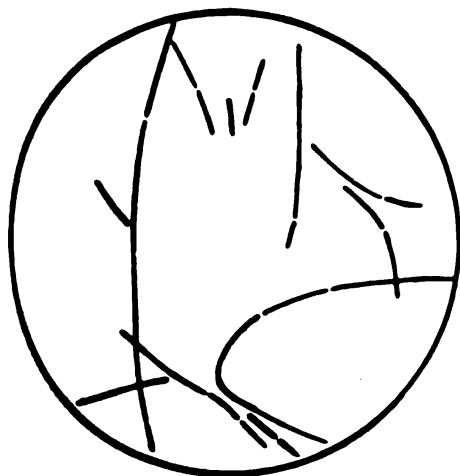


Fig. 3. Bazillen und Fäden vom Bauchfell eines Meerschweinchens.

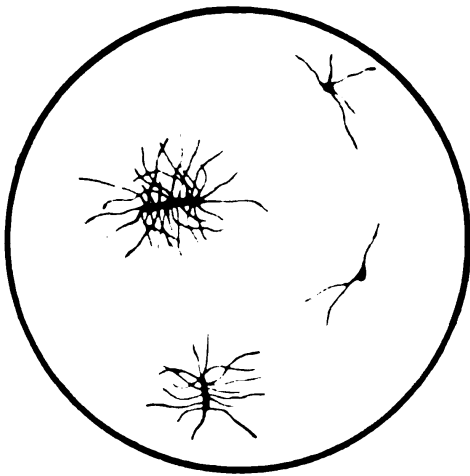


Fig. 4. Begeißelte Bazillen aus einer 36 Stunden alten Agarkultur.





vorzufinden. Es kommen neben den Stäbchen auch hier Sporen und Fäden vor (s. Taf. I, Fig. 3).

In der Leber und in den kranken Lymphdrüsen sind alle Formen in großer Zahl vorhanden; ist aber die Gasentwicklung fortgeschritten, so sind die sporenhaltenden Stäbchen und freie Sporen in der Mehrzahl.

Die Bazillen besitzen Eigenbewegung, die sich aber weniger bei der Untersuchung von Originalmaterial, als in Kulturen feststellen läßt. An Bazillen aus 30—40 Stunden alten Agarkulturen gelingt die Darstellung der zahlreichen, peritrich angeordneten, welligen Geißeln mit den gebräuchlichen Geißelfärbungsmethoden (s. Taf. I, Fig. 4).

Reinkulturen des anaëroben *Bacillus* gelingen gewöhnlich leicht durch Uebertragung kleiner Mengen vom Gewebssaft aus den krankhaft veränderten Muskeln oder Organen bei Ausschluß des Sauerstoffes; nur wenn auch andere Begleitbakterien in größerer Zahl vorhanden waren, kostete die Isolierung der Kolonien einige Mühe.

Auf schwach alkalischem Peptonagar entwickelt sich binnen 24—36 Stunden nach der Aussaat von Gewebssaft ein sehr feiner, weißlicher, bei durchfallendem Licht bläulicher Belag, worin sich, besonders nach dem oberen Rande des Nährbodens, mit Lupenvergrößerung ein sehr feines Fadengeflecht erkennen läßt. Falls das Material bakterienarm war, so entstehen auf der Agaroberfläche kleine, rundliche, ganz flache Kolonien, von deren Rändern aus alsbald fingerförmige Ausläufer nach allen Richtungen ausstrahlen und allmählich die ganze Oberfläche des Nährbodens bedecken (s. Taf. II, Fig. 5).

Bei Ueberimpfung einer Bouillonkultur auf Agar bilden sich nach Ablauf von 24—36 Stunden gewöhnlich isolierte Kolonien, die wegen ihrer Durchsichtigkeit mit Hilfe der Lupe nur bei seitlicher Beleuchtung deutlich wahrgenommen werden. Sie sind rund oder oval, ganz flach, haben anfangs einen Durchmesser von nur 1—3 mm, vergrößern sich aber rasch und fließen miteinander manchmal schon nach 48 Stunden zusammen. Sind sie nur in geringer Zahl vorhanden, so senden sie ebenfalls fingerförmige Ausläufer von ihren Rändern aus; namentlich beobachtet man dies an Kolonien in der Nähe des Kondenswassers. Falls sich die Bazillen auch in diesem vermehren, so erfolgt gewöhnlich Gasbildung in der davon bedeckten Agarmasse.

Auf Traubenzuckeragar gedeihen die Bazillen bedeutend besser, sofern der Nährboden 1—2 Proz. Traubenzucker enthält und weniger als 2 Wochen alt ist. Die Kulturen sind ähnlich wie auf gewöhnlichem Peptonagar, nur tritt der bläuliche Farbenton deutlicher hervor und bilden die Beläge eine dickere und mehr homogene Schicht, auch ist die Gasbildung stärker.

Auf Serumagar erfolgt das Wachstum in ganz ähnlicher Weise.

Impft man Gewebssaft in verflüssigten Agar, so entstehen darin nach 24 Stunden punktförmige Kolonien, die bei Lupenvergrößerung feine, kurze Strahlen aufweisen; kurze Zeit nachher bilden sich Gasblasen, die den Nährboden zerklüften. Gegenwart von Zucker fördert nicht merklich die Gasbildung.

Auf Drigalski-Conradis Lackmusmilchzuckeragar entwickeln sich binnen 24 Stunden zumeist knochenkörper- oder sternförmige Kolonien, in der Nähe des Kondenswassers mit längeren fingerförmigen Ausstrahlungen und häufig deutlichem Fadengeflecht. 1 oder 2 Tage später entfärbt sich der Nährboden im Bereiche der Kolonien und später in seiner ganzen Ausdehnung, wodurch die bläulichweißen

Kolonien deutlicher hervortreten. Nach 4—6 Tagen beginnt sich der Nährboden rötlich zu färben und wird in 10—12 Tagen durchgehends rot; in manchen Fällen aber geht die blaue Farbe unmittelbar in die rote über und auch die Kolonien selbst können diese Färbung annehmen.

Die Kolonien bestehen hier größtenteils aus Fäden, die sich sehr schlecht färben und feine Körnchen enthalten. Sporenbildung wird gewöhnlich vermißt.

Hiblers Hirnbrei. Diesen Nährboden habe ich in der Weise zubereitet, daß ich das gut zerriebene Schweinegehirn mit der gleichen Menge 0,9-proz. Kochsalzlösung aufschwemmte und die Masse 2 Stunden lang im Wasserbade kochte. Hierauf wurde der Brei in 8—10 cm hoher Schicht in Epruvetten gefüllt und an 3 aufeinander folgenden Tagen im Autoklav auf 110° C erhitzt.

Nach Verimpfung von Gewebssaft in die Tiefe dieses Nährbodens stellt sich schon nach 12 Stunden heftige Gasbildung ein, wodurch der Brei zerklüftet und zuweilen auch der Wattepfropfen hinausgetrieben wird. Nach 24—36 Stunden nimmt die Gasbildung ab, worauf die früher entstandenen Gasbläschen allmählich entweichen und der Brei in sich zusammensinkt. Gleichzeitig schlägt die ursprünglich gelblichgraue oder blaßrosa Farbe in eine deutliche Rosafärbung um, besonders in den tieferen Schichten des Nährbodens, wohingegen die oberen Schichten, wo keine Bakterienvermehrung stattfindet, keine Aenderung des Farbentons zeigen. Die Rosafärbung erhält sich im Brutofen bei Zimmerwärme auch monatelang unverändert; nur wenn die Glasröhrchen nicht dicht verschlossen waren, wird der allmählich vertrocknende Brei braun (s. Taf. II, Fig 1 und 2).

Mit dem Wachstum der Kulturen wird die ursprünglich amphotere oder schwach saure Reaktion des Hirnbreis immer deutlicher sauer.

Stämme, die auf Agar oder in Bouillon ihre Entwicklungsfähigkeit mehr oder weniger eingebüßt haben, ergeben im Hirnbrei wieder üppige Kulturen. Auch erhalten sich darin Sporen, die stets in großer Zahl gebildet werden, sehr lange Zeit lebensfähig. So konnte ich aus vollkommen eingetrocknetem Hirnbrei noch nach 3 Jahren wieder üppige Kulturen durch Aussaat auf frische Nährböden erzielen.

Im Gegensatz zu dem untersuchten Bakterium, wird der Hirnbrei durch typische Oedembazillen erst grau, später grünlichgrau und schließlich grünlich-dunkelgrau verfärbt. Bei der Untersuchung von Krankmaterial darf man nicht außer acht lassen, daß das Material verschiedene Bakterien enthalten kann, die eine ähnliche Farbenänderung hervorrufen. Alkalibildende Anaëroben führen sie überhaupt herbei, weil sie Schwefelhydrogen in genügender Menge produzieren, der zur Bildung von Eisensulfid Anlaß gibt. Die Schwärzung durch Aëroben läßt sich leicht daraus erkennen, daß sich die Schwarzfärbung nicht auf die ganze Breimasse erstreckt, sondern sich auf die Ränder der darin befindlichen, mit Flüssigkeit gefüllten Spalten beschränkt und dadurch dem Nährboden, besonders in der Nähe der Oberfläche, ein marmoriertes Aussehen verleiht. In einem Falle wurde eine Grünfärbung durch den *Bac. pyocyaneus* bedingt, wobei sie sich von der Oberfläche in die Tiefe fortsetzte und sehr intensiv wurde (s. Taf. II, Fig. 3 u. 4).

Die Milch wurde bei Ausschluß des Oxygens durch 3 Stämme in 2—4 Tagen zum Gerinnen gebracht, durch die übrigen nicht verändert.



1. Gehirnbrei unbeimpft. — 2. 16stündige Hirnbrei-Kultur des Bac. von Ghon-Sachs. — 3. Mit Peritonealexsudat vom Meerschweinchen beimpfter Hirnbrei Koli- und Pyocynneusbazillen enthaltend. — 4. Zweitägige Kultur des Oedembazillus (in Wirklichkeit etwas mehr grünlich dunkelgrau gefärbt). — 5. 24stündige Organkultur des Bac. von Ghon-Sachs.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





Tabelle III.  
Veränderungen der Nährböden nach Beimpfung mit den gezüchteten Bakterienstämmen.

Bak- terien- stamm	Al- kalisches Pepton	Milch- zucker	Trauben- zucker	Mannit	Maltose	Rohr- zucker	Gly- zerin	Drigalski- Conradi-Agar	Hiblers Hirn- brei	Gerinnung der Milch	Blutserum
I	+	++	++	+	++	+	—	Knochenzellen- ähnliche Kolo- nien	Gasbildung, rosa- rote Färbung	—	Verzweigte flache Kolonien
II	+	++	++	—	++	+	—	Entfärbung, später Rötung	dgl.	—	dgl.
III	+	++	++	—	++	++	—	"	"	+	"
IV	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
V	++	++	++	+	++	++	—	"	"	—	"
VI	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
VII	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
VIII	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
IX	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
X	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XI	++	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XII	++	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XIII	++	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XIV	+	++	++	+	++	++	—	"	"	—	"
XV	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XVI	++	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XVII	++	++	++	+	++	++	—	"	"	—	"
XVIII	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XIX	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
XX	+	++	++	—	++	++	—	"	"	—	"
Oedema malignum	.	++	++	++	++	++	++	Entfärbung	Wenig Gas, grün- lich-graue Fär- bung	Gerinnt und wird peptonisiert	Wird verflüssigt
dgl.	++	++	++	++	++	++	++	"	dgl.	dgl.	"
"	++	++	++	++	++	++	++	"	"	"	"

Erklärung zur Bouillon: + = schwache Trübung, geringe Gasbildung; ++ = bedeutende Gasbildung; +++ = sehr starke Trübung, starke Gasbildung.

4\*

Im ersteren Falle schrumpfte das Gerinnsel später zusammen und löste sich auch nach mehreren Wochen nicht mehr auf. Sporulation findet in diesem Nährboden nur in mäßigem Grade statt. Nach Verimpfung von Oedembazillen gerinnt die Milch bekanntlich binnen kurzer Zeit, doch verflüssigt sich das Gerinnsel zumeist schon nach wenigen Tagen.

Auf erstarrtem Blutserum bildeten sämtliche 21 Stämme flache, sich verzweigende Kolonien, wobei der Nährboden, im Gegensatze zu Kulturen des Oedembacillus, nicht verflüssigt wurde.

In gewöhnlicher Bouillon wuchsen die untersuchten Stämme nur spärlich, dagegen wurde ihr Wachstum durch Zusatz von 1–2 Proz. Milchzucker, Traubenzucker oder Maltose bedeutend gefördert, indem die Bouillon sich dann trübte und auch rasche Gasbildung erfolgte. Weniger fördernd wirkte der Rohrzucker; durch 2 Proz. Mannit oder ebenso viel Glyzerin aber wurde die Entwicklung gehemmt. (Gegensatz zum Oedembacillus!)

In Bouillonkulturen findet man neben Bazillen auch Fäden, dagegen keine oder nur wenige Sporen.

### Tierversuche.

Schweine lassen sich durch subkutane oder intramuskuläre Verimpfung von frischem oder getrocknetem Originalmaterial sowie Reinkulturen zumeist leicht infizieren, immerhin widerstehen aber manche Tiere auch der sonst tödlichen Infektion.

Nach gelungener Infektion verläuft die Krankheit gewöhnlich binnen 1–3 Tagen tödlich, doch kommen auch Fälle vor, wo die Tiere die Krankheit überstehen.

Die Temperatur steigt schon nach 10–20 Stunden um einige Zehntel Grade, vor dem Tode aber sinkt sie um 1–3° C unter die Norm herab. Nach intramuskulärer Infektion läßt sich schon nach Ablauf von 6 bis 8 Stunden eine teigige Anschwellung der betreffenden Körperregion wahrnehmen, die gewöhnlich mit erhöhter Wärme und Rötung der Haut, sowie Schmerzhaftigkeit einhergeht. Die Schwellung dehnt sich rasch aus und gleichzeitig läßt sich beim Betasten mehr oder weniger deutliches Knistern nachweisen. Dabei sind die Tiere abgestumpft, fressen wenig und später gar nicht, liegen viel und stehen schließlich auch auf Anspornen gar nicht mehr auf.

Der Krankheitsverlauf und die anatomischen Veränderungen werden durch nachfolgenden Versuch veranschaulicht.

Einem etwa 9 Monate alten Ferkel der Mangaliczarasse wurde am 13. Dez. 1913 1,0 Pericardialflüssigkeit des an Magendarmentzündung verendeten Schweines No. XX in die Muskulatur des linken Schenkels gespritzt. Die Flüssigkeit enthielt Bazillenfäden.

Am Morgen des nächsten Tages ist das Tier traurig, der linke Schenkel geschwollen, auf Druck knisternd, die darüberliegende Haut gerötet. Das Tier liegt ständig; aufgetrieben, belastet es den linken Hinterfuß nicht. Körpertemperatur zur Zeit der Impfung 39,3° C, am nächsten Morgen 39,0°, mittags 38,4°. Nachdem die Schwellung sich weiter ausgebreitet hat, erfolgte der Tod nachmittags um 2 Uhr, d. i. in der 21. Stunde nach der Infektion.

Sektionsbefund am 15. Dez. morgens: Der linke Schenkel ist auf den doppelten Umfang angeschwollen; die Schwellung erstreckt sich auch auf den Unterbauch, fühlt sich teigig, bei stärkerem Druck knisternd



Fig. 1. Linker Vorderfuss mit angrenzendem Rumpfteil.  
Nach dem Abbrühen blieben die Borsten des erkrankten Fusses haften.

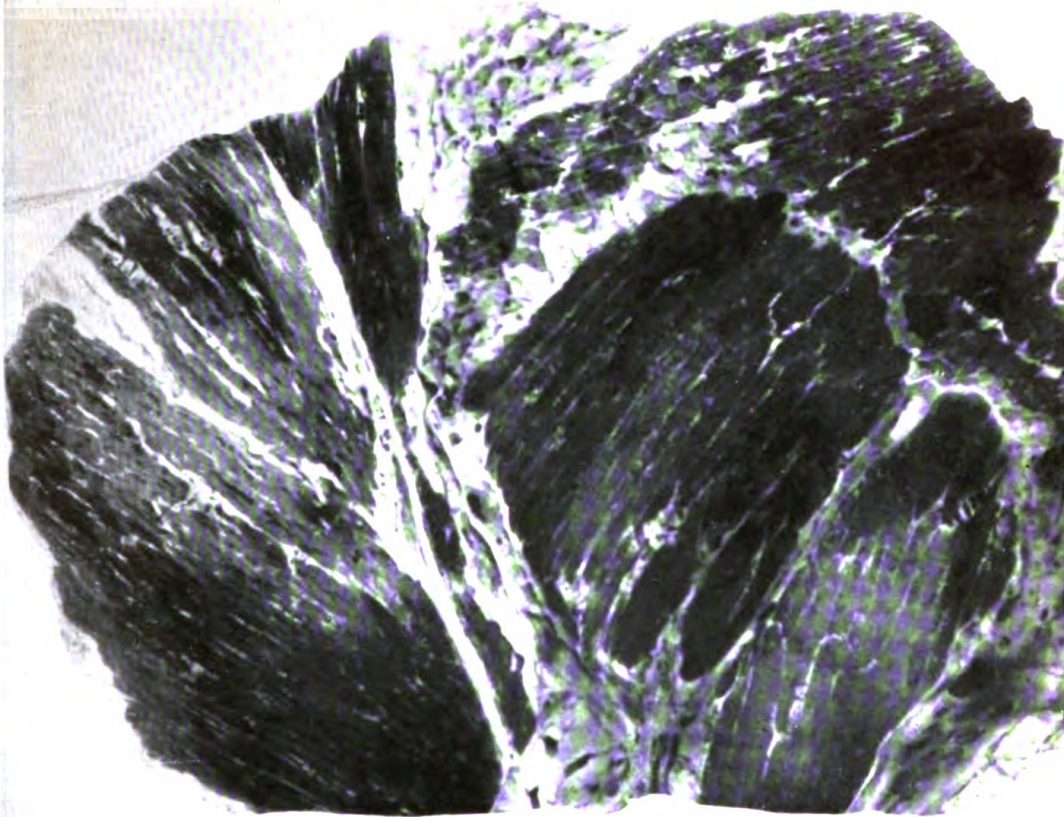


Fig. 2. Hautnekrose der erkrankten Lendenmuskulatur.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.







**Fig. 1.** Schultermuskulatur vom Schwein; links Gasbildung, rechts dunkle Verfärbung.

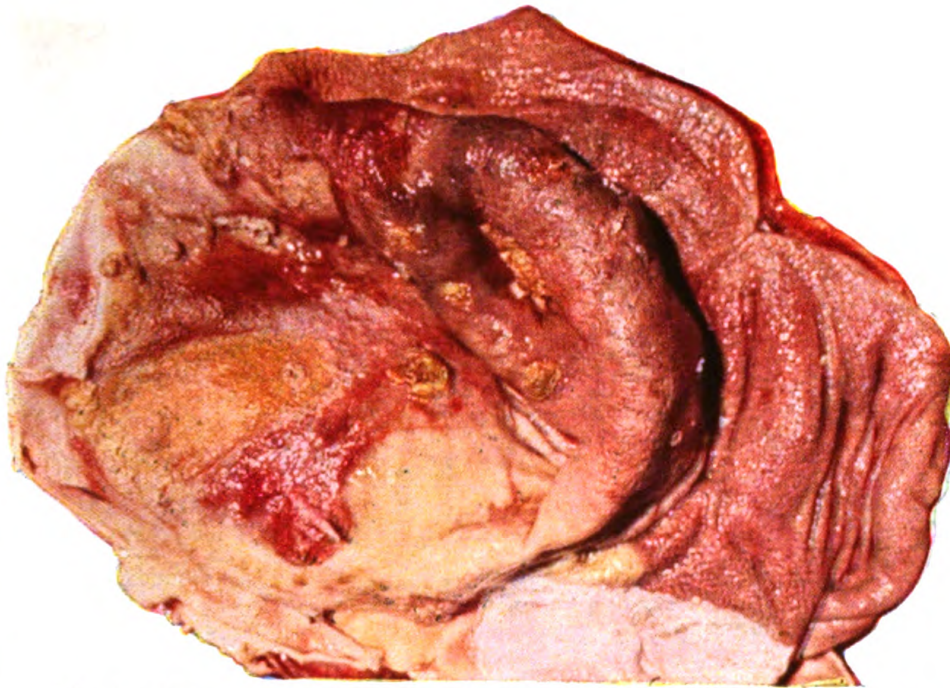


**Fig. 2.** Schenkelmuskulatur vom Schwein; grösstenteils schwärzlich verfärbt.

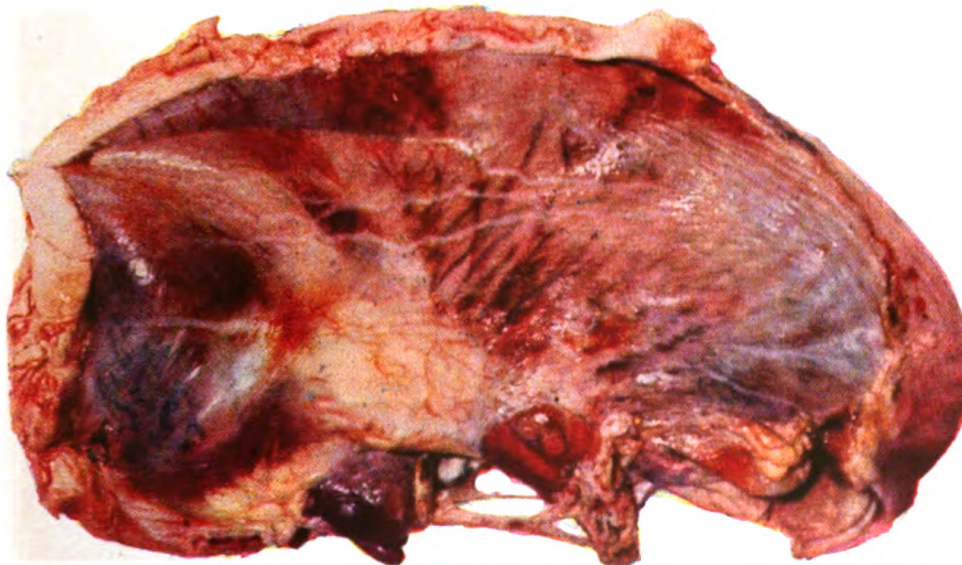
Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.







**Fig. 1. Magen mit stark verdickter entzündeter Schleimhaut und diphtheritischen Auflagerungen.**



**Fig. 2. Magen mit lebhaft injiziertem und fleckig gerötetem serösem Ueberzug. Unten akut geschwollene Lymphknoten.**

**Verlag von Gustav Fischer in Jena.**



an. Die Haut ist in ihrem ganzen Bereiche gerötet. Das Unterhautbindegewebe ist bedeutend verbreitert, mit viel rötlicher, schwach getrübt, seröser Flüssigkeit durchtränkt. Fettgewebe schmutzig rötlich verfärbt. Die stark geschwollene Schenkelmuskulatur auf Druck und beim Einschnitt knisternd, die Schnittfläche bunt, in dem rote, saftreiche Stellen mit fahlgelben oder im Gegenteil dunkel braunroten, trockenen Stellen unregelmäßig abwechseln. Die trockenen Stellen, in mäßigerem Grade auch einzelne saftige Partien, haben ein schwammiges Aussehen. Beim Hinhalten eines brennenden Streichhölzchens entzündet sich das Muskelgas. Die Muskulatur der sonstigen Körpergegenden hat eine normale Beschaffenheit. Das Bauchfell schwach gerötet; zwischen den Bauchschlingen befinden sich ziemlich zahlreiche, weiche Fibrinfäden. Magen und Darm gebläht. Milz normal. Die Oberfläche und die Schnittfläche der Leber durch linsen- bis heller große, blaßrote oder fahlgelbe Herde bunt gestaltet; das Parenchym weich und brüchig. Lungen normal. Im Herzbeutel etwa 3 ccm einer rötlichen, serösen Flüssigkeit. Die Herzgefäße injiziert, der Herzmuskel weniger fest, blaßrot und zerreißlich.

Im Geschwulstsaft Stäbchen und kurze Fäden, ferner *Clostridium*-Formen; einzelne Bazillen enthalten je eine Spore. In der Milz und Leber, sowie im Blute Stäbchen und kurze Fäden; am Bauchfell und namentlich am Leberüberzug lange Fäden.

Meerschweinchen sind sehr empfindlich gegenüber der künstlichen Infektion, immerhin widerstehen manche Tiere der Behandlung mit geringen Mengen des Infektionsmaterials. Ihr Widerstand läßt sich zumeist durch Anwendung größerer Virusdosen bewältigen; in manchen Fällen aber scheint die Resistenz durch die vorangehenden Infektionen erhöht zu werden, da sie eine zweite oder dritte Infektion mit höheren Dosen ohne Reaktion ertragen.

Die mit 0,1—0,2 g frischen Materials infizierten Meerschweinchen erlagen meistens nach 11—16 Stunden, während nach Impfung mit 0,00002—0,005 g getrockneter und emulgierter Muskulatur der Tod erst nach 13—60 Stunden erfolgte. Die Erwärmung der Emulsionen 5 bis 6 Minuten lang auf 60—65° C hemmte die Infektionsfähigkeit des Materials nur dann, wenn die Sporulation der Bakterien nicht vollständig war.

Nach Impfung in die Schenkelmuskulatur entwickelt sich binnen 6—10 Stunden eine starke Schwellung, die rasch auf den Unterbauch übergreift. Sie ist anfangs höher temperiert und schmerzhaft, später kühl und knisternd; die darüber befindliche Haut wird feucht, die Haare fallen aus und nach dem alsbald erfolgenden Tode lassen sie sich mit leichtem Druck mitsamt dem Epithel abziehen. Die Rötung geht nach dem Tode rasch in eine schmutzigrote und schließlich grünliche Färbung über.

Das subkutane Bindegewebe erscheint mit einer bald klaren, bald etwas getrühten und kleine Gasbläschen enthaltenden serösen Flüssigkeit durchtränkt. In der Schenkelbeuge kann die Haut in größerer Ausdehnung durch eine einzige große Gasblase von der Unterlage abgehoben sein. Die Muskulatur ist in der Umgebung der Impfstelle braunrot, saftreich, zuweilen auch von Gasbläschen durchsetzt. Bauchwand verdickt und serös infiltriert. Bauchfell, besonders in der Nähe der Impfstelle, gerötet. Die Bauchhöhle enthält gewöhnlich etwa 1—2 ccm

einer gelblichen, gelblichroten oder dunkelroten, serösen Flüssigkeit. Innere Organe sonst normal, höchstens mäßiger Milztumor vorhanden.

Die mikroskopische Untersuchung weist in der Subcutis gewöhnlich nur Bazillen nach, teilweise mit je einer Spore im Innern, zuweilen auch kurze Kettenverbände. In der Muskulatur findet man unmittelbar nach dem Tode nur in einzelnen Bazillen Sporen, außerdem ebenfalls nur wenige Fäden. 24—60 Stunden später sind *Clostridium*-Formen, sowie sporenhaltige Bazillen in großer Zahl vorhanden. Am Bauchfell und auf der Leberoberfläche überwiegen Bazillenkette und Fäden (s. Taf. I, Fig. 3); später treten auch zahlreiche sporenhaltige Bazillen und freie Sporen auf. In der Leber und im Blut findet man gewöhnlich nur spärliche Bazillen; sie lassen sich gewöhnlich leicht in Reinkultur züchten.

Tauben sind ebenfalls sehr empfänglich und erliegen, mit seltenen Ausnahmen, binnen 10—20—40 Stunden der künstlichen Infektion.

Injektion von infektiösem Material in den Brustmuskel verursacht schon in einigen Stunden eine Schwellung der Impfstelle; gleichzeitig wird die darüberliegende dünne Haut bläulich verfärbt und läßt den dunkel gefärbten Muskel durchschimmern. Kurz vor dem Tode läßt sich auch Knistern konstatieren. Sofort nach dem Tode findet man die Subcutis trocken, den Muskel durch dunkel-braunrote und mattgraue Partien bunt gestaltet. Stellenweise sind die Muskelfasern durch kleine Gasbläschen auseinandergedrängt. Sonst ist die Muskelsubstanz bald trocken, bald feucht.

Unter dem Mikroskop sieht man darin Bazillen und kurze Bazillenkette, in geringer Zahl auch Fäden; auf dem Bauchfell fast ausnahmslos lange Fäden, nach einiger Zeit auch Sporen.

Weisse und graue Mäuse erliegen gewöhnlich binnen 12, seltener innerhalb 24 Stunden der künstlichen Ansteckung.

Die Impfung hat fast stets nur eine ödematöse Infiltration der Impfstelle zur Folge. In der Serosität lassen sich gewöhnlich nur sporenlose Bazillen, auf dem Bauchfell dagegen häufig auch lange Fäden nachweisen. Solche finden sich auch im Blute.

Kaninchen bekunden eine große Resistenz gegenüber der Infektion, und, falls die Verimpfung größerer Virusmengen eine Erkrankung zur Folge hat, geht sie zumeist in Genesung über. Von 26, auf verschiedene Weise infizierten Kaninchen ist nur 1 tödlich erkrankt, und in diesem Falle hat die Zerlegung nur eine ödematöse Schwellung der Impfstelle nachgewiesen.

Schaf. Ein mit 1,0 ccm einer 12-tägigen Maltosebouillonkultur in die Schenkelmuskulatur geimpftes Schaf erkrankte nach 20 Stunden und erlag in 40 Stunden. In der Umgebung der Impfstelle entstand eine mächtige ödematöse Infiltration mit Gasbildung. Eine ausgeprägte Mastdarmentzündung und Lungenödem machten die Krankheit besonders bösartig.

Der ganze Körper war von den hier besprochenen Bakterien überschwemmt; sie konnten von jeder beliebigen Stelle leicht in Reinkultur gezüchtet werden. Auch die Galle enthielt sehr viele Bazillen.

Zwei mit größeren Mengen des Impfmateri als (Leber, Blut, Muskel und Infiltrationsflüssigkeit vom vorerwähnten Schaf) gefütterte Schafe blieben gesund.

## Beschreibung der beobachteten Fälle.

### A. Muskelveränderungen.

I. Etwa  $\frac{3}{4}$  Jahre altes Schwein, seit einigen Tagen bereits an Schweinepest krank, begann am 24. April 1909 am linken Vorderfuß lahmzugehen; am nächsten Tage stützte es sich gar nicht mehr auf diesen Fuß. An diesem Tage notgeschlachtet.

Sektionsbefund: Der linke Vorderfuß durchweg stark geschwollen, die Haut darüber gerötet, beim Betasten Knistern deutlich merkbar. Das subkutane Bindegewebe mit viel rötlicher, seröser, bläschenhaltiger Flüssigkeit infiltriert. Die Muskeln des Oberarms dunkelrot, knisternd, am Durchschnitt schwammig; das intermuskuläre Bindegewebe nur stellenweise durchfeuchtet. In den inneren Organen auf Schweinepest hinweisende Veränderungen.

In Anstrichen der Muskulatur und der Subcutis in ziemlich großer Zahl schlanke Bazillen, teilweise durch ovale Sporen im Mittelteil oder mehr polwärts ausgebuchtet. Einzelne 3—4-gliedrige Bazillenketten und ähnlich lange ungegliederte Fäden.

II. 60 kg schweres Schwein, am 19. August 1909 im Stalle tot aufgefunden.

Sektionsbefund: Rechter Hinterfuß und linker Schenkel stark geschwollen; die Anschwellung behält die Fingereindrücke und läßt in der Tiefe schwaches Knistern verspüren. Subcutis auf 1—2 cm, in der Inguinalgegend bis auf 5—6 cm verbreitert, sazig infiltriert, rötlichgelb. Die Muskulatur des rechten Schenkels stark gedunsen, einzelne Muskelbäuche dunkelrot und von schwarzroten Partien durchsetzt, auf Druck knisternd. Die Schnittfläche von ähnlich buntem Aussehen, die Muskelfasern stellenweise durch Gasbläschen auseinandergedrängt, die einen unangenehmen Geruch verbreiten. Einzelne Muskeln haben eine normale Färbung, enthalten aber trotzdem schon einzelne Gasbläschen. Die Muskulatur des linken Schenkels ähnlich, aber in geringerem Grade verändert. Die übrige Muskulatur und ebenso die inneren Organe, abgesehen von mäßiger trüber Schwellung des Parenchyms, normal.

Bakteriologischer Befund wie im Falle I.

III. Halbgemästete alte Mangaliczasau; begann am 16. Januar 1910 auf dem rechten Vorderfuß lahm zu gehen, und gleichzeitig ließ sich eine Schwellung dieser Gliedmaße wahrnehmen. Am nächsten Tage steigerte sich die Schmerzhaftigkeit und die Schwellung; da das Tier außerdem auch abgestumpft und appetitlos wurde, ist es notgeschlachtet worden.

Sektionsbefund: Nach dem Abbrühen und Abputzen erscheint der rechte Vorderfuß mitsamt der Schultergegend stark geschwollen, die Haut darüber schmutzigrot verfärbt. Die Anschwellung behält die Fingereindrücke und knistert auf stärkeren Druck. Speckschicht im Bereiche der Hautrötung ebenfalls schmutzigrot verfärbt. Das Unterhautbindegewebe daselbst 0,5—1,0 cm dick, gelblichrot, lebhaft injiziert, stark durchfeuchtet. Sämtliche Muskeln, ferner die Brustmuskeln der rechten Seite und der rechte breite Rückenmuskel deutlich knisternd, ihre Schnittfläche stellenweise dunkelrot und schwammig. Die Hautmuskeln ebenfalls auffallend verändert. Die blutig-seröse Infiltration der Subcutis erstreckt sich auch auf den Hals, den Kehlgang und die rechte Unterohrgegend. Der rechtsseitige submaxillare Lymphknoten bedeutend vergrößert, schmutzig-braunrot und enthält zahlreiche, mit Gas gefüllte, kleine Höhlen. Die schwersten Veränderungen weist die Muskulatur des Oberarms und der Schulter auf; gegen die Peripherie nehmen sie an Intensität allmählich ab. Innere Organe normal. Auf der Körperoberfläche nirgends eine Kontinuitätstrennung.

Im Geschwulstsaff Stäbchen in großer, kurze Fäden in geringer Menge; einzelne Stäbchen enthalten je 1 ovale Spore.

IV. Halbjähriges Ferkel; verendet am 23. Februar 1910.

Der Musc. sterno-cephalicus im Mittelteil schwarzrot, mäßig verdickt; auf der ebenfalls schwarzroten Schnittfläche einige rundliche Vertiefungen an Stelle von Gasbläschen. Die benachbarten Muskeln teilweise dunkelrot verfärbt. Das intermuskuläre Bindegewebe trocken, die Subcutis, entsprechend dem erkrankten Muskel, mäßig serös durchfeuchtet. Sonst nichts Abnormes.

Bakteriologischer Befund wie oben.

V. Am 30. Sept. 1910 wurde dem Laboratorium der linke Vorderfuß eines Schweines zugeschickt, das in einem anderen Maststalle nach der Notschlachtung bei der Fleischschau für untauglich zu Konsumzwecken befunden wurde.

Unterarm und Ellbogen verdickt; die abgebrühte und von den Borsten befreite Haut hier graurot, die darunter befindliche Speckschicht rötlich verfärbt. Die Subcutis an der ganzen Gliedmaße 0,5—1,0 cm dick, rötlichgelb, saftreich, Blutgefäße lebhaft injiziert. Normale Muskelbäuche wechseln mit braunroten unregelmäßig ab; die veränderten Teile knistern auf Druck und beim Einschnneiden; die Schnittfläche trocken und schwammig.



Im Muskelsaft zahlreiche, zum Teil sporenhaltige Bazillen, ferner verschieden lange Fäden. Vereinzelt schwach gefärbte, im Mittelteil verdickte Formen.

VI. Etwa 60 kg schweres Schwein aus einem Bestande von 250 ähnlich schweren Schweinen, die zur Schweinepest-Virusproduktion in einen verseuchten Stall eingestellt wurden. In schwerkrankem Zustand am 13. Nov. 1910 getötet und sofort abgebrüht und von den Borsten gereinigt.

Die linke Backengegend vom Mundwinkel bis zum Ohransatz, der Kehlgang und das obere Drittel des Halses geschwollen. In der Gegend der Kaumuskeln tympanitischer Perkussionsschall, auf Druck deutliches Knistern. Die Haut im Bereiche der Anschwellung schmutzigrot verfärbt, ebenso die davon bedeckte Fettgewebsschicht. Die Subcutis, namentlich in der Nähe der stark geschwollenen Lymphknoten, schmutzigrot, saftreich, aber nur mäßig verbreitert; benachbarte Muskeln dagegen dunkelrot, stellenweise schwarzrot, saftig glänzend, an vielen Stellen schwammig. Die Nackenmuskulatur, namentlich in den tiefen Lagen, dunkelrot, knisternd. Der Bauch des Musc. sternoccephalicus sieht fast wie ein Blutgerinnsel aus. Die linksseitigen submaxillaren Lymphknoten stark vergrößert, schwarzrot, und teilweise auch die Muskeln in der Umgebung des Zungenbeins ähnlich beschaffen.

Im Muskelsaft ziemlich zahlreiche Bazillen, teilweise im Mittelteil ausgebuchtet, aber auch nach 30 Stunden nur wenige Sporen enthaltend und dazwischen sehr zahlreiche Fäden, zum Teil von ansehnlicher Länge. Solche auch in den Lymphknoten und am Bauchfell.

VII. Ca. 60 kg schweres Schwein aus demselben Bestande wie No. VI, wegen schwerer Erkrankung an Schweinepest am 14. Nov. 1910 getötet.

In der linksseitigen Schenkelmuskulatur hinter dem Sitzhöcker ein etwa hühnereigroßer, dunkelroter, matter Herd. Sonst nur auf Schweinepest hinweisende Organveränderungen.

Im Muskelsaft sporenlose Stäbchen und verschieden lange Fäden.

VIII. Ca. 50 kg schweres Schwein aus demselben Bestande wie No. VI und VII; am 17. Nov. 1910 in schwererkranktem Zustande getötet.

Der rechte Vorderfuß vom Ellbogen abwärts geschwollen, die Haut schmutzigrot verfärbt. Das subkutane Bindegewebe im Bereiche der Anschwellung saftreich, mit rötlicher, schwach getrübter, seröser Flüssigkeit infiltriert; ähnlich beschaffen ist auch das intermuskuläre und das die Sehnen umgebende Bindegewebe. Die Muskeln haben ein normales Aussehen. Ebenfalls geschwollen ist die Sternalgegend und die untere Halsgegend, ferner der Kehlgang und die Rachengegend; das serös infiltrierte subkutane Bindegewebe dieser Partien und auch die darin gelegenen vergrößerten Lymphknoten sind von Gasbläschen durchsetzt. Der rechte breite Brustmuskel dunkelrot, saftreich, nicht knisternd. Im Musc. sternoscapularis in der Nähe des Brustbeins ein haselnußgroßer, schwarzroter, saftreicher, zerreiblicher Herd. Oberhalb des rechten Carpalgelenks befindet sich an der Innenfläche ein hellergroßer Substanzverlust mit zerfetzten Rändern und belegtem Grund; in dessen Umgebung sind jedoch die Muskelveränderungen nicht stärker ausgeprägt wie am Unterarm. Sonst nur für die Schweinepest charakteristische Organveränderungen.

In der serösen Flüssigkeit der Subcutis und im Muskelsaft zahlreiche, sporenlose Bazillen, dagegen weder hier, noch am Bauchfell Fäden.

IX. Ca. 50 kg schweres Schwein aus demselben Bestande wie No. VI, VII und VIII; notgeschlachtet am 17. Nov. 1910.

Am Rücken die Haut in der Ausdehnung von mehreren Handflächen schmutzigrot und geschwollen; in deren Mitte oberhalb des letzten Rückenwirbels und etwas nach rechts ein hellergroßer, ganz oberflächlicher Substanzverlust mit mehreren Rändern und rötlichem Grunde. In dessen Umgebung ist die Speckschicht auf eine Entfernung von etwa 15 cm und 3—4 cm tief, ferner auch das darunter befindliche Bindegewebe schmutziggrau, letzteres auch serös infiltriert. Der rechtsseitige lange Rückenmuskel ist oberhalb der letzten 6 Rippen dunkelrot, weiter rückwärts auffallend blaß, auf Druck und beim Einschnneiden knisternd, dabei zerreiblich und auf der Schnittfläche trocken. Ebenfalls von Gasbläschen durchsetzt, jedoch sehr blaß und glanzlos erscheint auch der kleine Hüftmuskel unterhalb der Querfortsätze der Hüftwirbel. Endlich weist auch der Rippenteil des rechten M. serratus major eine dunkelrote Farbe und deutliches Knistern auf; dagegen läßt sich auf der linken Rumpfseite nur am langen Rückenmuskel, neben blaßroter Farbe, Knistern konstatieren. Das subkutane Bindegewebe erscheint beiderseits mit viel seröser Flüssigkeit infiltriert.

In der Serosität und in den dunkelroten Muskelpartien zahlreiche, sporenlose Stäbchen und einige kurze Fäden, dagegen in den abgeblaßten, trockenen Partien zu meist sporenhaltige Bazillen und Clostridium-Formen. Sporenlose Stäbchen auch auf der Oberfläche der Nieren.

X. Mittelschweres Schwein, das kurz vorher eine Erkrankung an Schweinepest



überstanden hat. Nachdem es seit einigen Tagen schon munter war, versagte es am 3. Nov. 1911 das Futter und ging am rechten Vorderfuß lahm; da sich der Zustand weiter verschlimmerte, wurde es am 5. Nov. notgeschlachtet.

Beim Abbrühen fiel der Umstand auf, daß die Borsten am rechten Vorderfuß, trotz mehrmaligem Begießen mit heißem Wasser, fest haften blieben. Diese Gliedmaße ist übrigens in ihrer ganzen Ausdehnung mitsamt der Schultergegend stark geschwollen, und von teigiger Konsistenz, die Haut darüber schmutzigrot. Subcutis mit rötlicher Serosität infiltriert. Der Musc. sterno-cephalicus dunkel braunrot, saftreich, beim Bestasten nicht knisternd. Ähnlich beschaffen ist auch die eine Hälfte des Musc. splenius capitis, die andere dagegen normal. Die Muskulatur des Unterarms und der Musc. teres major dunkel braunrot, serös durchfeuchtet.

In der Serosität der Subcutis spärliche, in den kranken Muskelpartien zahlreiche sporenlose Stäbchen und einige Fäden. Auf der Leberoberfläche zahlreiche Fäden, am Herzbeutel, sowie in der Leber und Milz Stäbchen.

XI. Ca.  $\frac{3}{4}$  Jahre altes, notgeschlachtetes Schwein; am 12. Dez. 1912 vom Fleischbeschauamte zur weiteren Untersuchung eingesendet.

Die rechte Seite des Kopfes, des Halses und der Schulter stark geschwollen, die Haut schmutzigrot, die Fettschicht darunter ähnlich verfärbt oder nur gerötet. Subcutis braunrot, durchfeuchtet, von Gasbläschen durchsetzt.

Die mittleren und hinteren Lymphknoten stark vergrößert, schwarzrot. Die Hautmuskeln im Bereiche der Anschwellung, ferner die rechten Schultermuskeln und der rechte M. masseter saftreich, auf der Schnittfläche durch schwarzrote Stellen bunt gestaltet und von Gasbläschen durchsetzt. Die Nackenmuskeln in der Nähe der Ansatzstelle schwarzrot und trocken. Die weiche Hirnhaut mit rötlicher Serosität infiltriert.

In der Serosität der Subcutis und in den erkrankten Muskelpartien Bazillen, auf der Hirnoberfläche zahlreiche Fäden, am Herzbeutel, in der Leber und Milz sporenlose Stäbchen. 24 Stunden später enthalten die Muskeln schon zahlreiche sporenhaltige Bazillen.

XII. Ca. 70 kg schweres,  $1\frac{1}{2}$ -jähriges Schwein aus einer mit Schweinepest infizierten Herde. Umgestanden am 3. Januar 1913.

Linke Backe, Rachengegend und Vorderkopf geschwollen. Subcutis im Bereiche der Anschwellung grau, saftreich, Blutgefäße injiziert. Lymphknoten daselbst vergrößert, dunkelrot, saft- und blutreich. Muskeln der Rachengegend in den tieferen Lagen dunkelrot oder schwarzrot und durchfeuchtet. Einzelne Muskelbäuche in den äußeren Schichten blaßrot, in den tieferen dunkelrot und schwammig. Schleimhaut und Submucosa des Rachens sulzig infiltriert. In den Muskeln keine Veränderung. Blutgefäße der weichen Hirnhäute injiziert.

In den kranken Muskelpartien, der Leber und Milz sowie am Herzbeutel Bazillen, mitunter mit je einer ovalen Spore im Innern; auf der Oberfläche des Gehirns und der Leber zahlreiche, lange Fäden. Nach 36 Stunden bei 30° C unter der Hirnhaut viele sporenhaltige Stäbchen; im Innern der Hirnmasse außerdem auch lange Fäden und Bazillenkette, deren Glieder ausgebuchtet sind, sich nur schwach färben und je ein gut färbbares Körnchen enthalten.

XIII. Ca. 2 Jahre altes, 90 kg schweres Schwein aus einem mit Schweinepest infizierten Bestande; umgestanden am 16. Juni 1913.

Der linke Hinterfuß durchweg stark geschwollen, von teigiger Konsistenz, auf Druck knisternd. Die Schwellung setzt sich am Unterbauch bis zur Nabelgegend, auf der rechten Seite auf die Inguinalgegend und die Kniefalte fort. Die Haut erscheint im Bereiche der Geschwulst schmutzigrot verfärbt; auf der Außenseite des linken Schenkels befinden sich mehrere hellergroße, schwarze Flecken. In der Nabelgegend ist die verfärbte Hautfläche durch eine dunkler gefärbte, scharfe Linie nach vorne gegen die normale Haut abgegrenzt. Entsprechend den schwarzen Flecken am linken Schenkel, ist die Haut in ihrer ganzen Dicke dunkelrot. Subcutis mitsamt der Speckschicht schmutzigrot, sehr saftreich, beim Einschnneiden knisternd; auf die Schnittfläche ergießt sich teils klare, teils etwas getrübte, rötliche, mit Gasbläschen vermengte, seröse Flüssigkeit. Die dazwischen liegenden Lymphknoten sind geschwollen und dunkelrot. In der Tarsalgegend und weiter nach oben sieht man in der graugelben Subcutis bis auf 1 mm erweiterte Lymphgefäße, zwischen denen aus der Tiefe mit klarer Serosität sehr zahlreiche Gasbläschen emporsteigen.

Von den Schenkelmuskeln sind die Adductoren dunkelrot, etwas trocken, deutlich angefasert, und enthalten zwischen den Muskelfasern zahlreiche, kleine Höhlen. Die tiefer und die vor dem Schenkelknochen gelegenen Muskeln (M. quadriceps) sind durch teils dunkelrote, teils bis schwarzrote Partien bunt gestaltet. In den dunkel gefärbten, zunderartig trockenen und zerreißen Stellen erscheinen die Muskelfasern durch Gasbläschen auseinandergedrängt. Den kranken Muskelpartien entströmt ein süßlicher Geruch. Sonst keine Veränderungen.

In der erkrankten Muskulatur neben sporenlosen und sporenhaltigen Bazillen zahlreiche Fäden von verschiedener Länge; solche in großer Zahl auch am Bauchfell. In der Milz und im geronnenen Blutgefäße Bazillen.

XIV. Ca. 80 kg schweres Schwein aus einer größeren Herde, die am 27. Juni 1913 in den Versuchsstallungen angelangt ist; wegen Pestverdachtes am 23. Juli notgeschlachtet.

Die Haut der rechten Bauchseite, des rechten Schenkels und der Kruppe gerötet, die darunter befindliche Speckschicht schmutzigrot verfärbt, ebenso die Subcutis; diese außerdem serös infiltriert und von Gasbläschen durchsetzt. Der rechte äußere schiefe Bauchmuskel in seiner ganzen Ausdehnung schwarzrot, bedeutend verdickt und feuchtglänzend; die Schwellung ist besonders im Mittelteil hochgradig und läßt hier am Querschnitt kaum irgendeine Struktur erkennen. Die Muskeln der Kruppe, die vordere und die äußere Schenkelmuskulatur sehr bunt, indem in die hell graurote Substanz erbsen-, mandel- bis nußgroße, dunkelrote oder auch gleichmäßig schwarzrote Herde eingestreut erscheinen. Die Buntheit ist besonders am Längsschnitt der Schenkelmuskulatur ausgeprägt, da graurote Muskelbäuche mit dunkelroten abwechseln. Sonst sind die Muskeln aufgefasert und enthalten mit Gas gefüllte, lange Spalten; außerdem erscheinen sie mehr oder weniger trocken, teilweise zunderartig. In den inneren Organen Blutungen, wie bei akuter Schweinepest.

In den kranken Muskelpartien Stäbchen und kurze Fäden; sporenhaltige Bazillen nur in geringer Zahl.

XV. Etwa  $\frac{1}{4}$  Jahre altes, 63 kg schweres Schwein aus dem am 21. Nov. 1913 eingelangten Bestande, wo vor 1 Monate 2 Tiere an emphysematöser Magenentzündung umgestanden sind (s. Fall XIX und XX).

Bei der äußeren Besichtigung, abgesehen von mäßiger Spannung der Bauchwand, nichts Abnormes. Subkutanen Bindegewebe und Speckschicht der linken Bauchseite schmutzigrot verfärbt. Beim Abtrennen der Schulterblätter entleert sich aus den durchgeschnittenen Blutgefäßen dunkelrotes, mit Gasbläschen vermischtes Blut; in der Nähe eines größeren Gefäßes ist die Muskulatur an einer hellergroßen Stelle dunkelrot. Die Lymphknoten des Halses und der Inguinalgegenden namhaft vergrößert, von außen dunkelrot, im Innern graurot und mit feinmaschiger Serosität infiltriert. Die linken Bauchmuskeln in der Nähe des Schaufelknorpels in der Ausdehnung einer Handfläche dunkelrot, stellenweise schwarzrot, mäßig feucht, von vielen Gasbläschen durchsetzt. Einzelne Muskelteile sehen wie geronnenes Blut aus und setzen sich gegen die normale Muskelsubstanz scharf ab. Die Blutgefäße des Bauchfells injiziert, stellenweise bis linsengroße Blutungen. Ähnliche Blutungen auch in der hyperämischen Schleimhaut des Magens und des Dickdarms. Milz normal. Leberparenchym stellenweise fahlgelb und wegen zahlreicher Gasbläschen von schwammiger Konsistenz. Die Kranzgefäße des Herzens enthalten zahlreiche Gasbläschen, der Herzmuskel gekochtem Fleisch ähnlich und mürbe.

In der Serosität der krankhaft veränderten Muskeln und der infiltrierten Subcutis, ferner in den Lymphknoten zum Teil sporenhaltige Bazillen, in den letzteren auch Distomenformen; auf dem Bauchfell, dem Herzbeutel und den Hirnhäuten außerdem Fäden. In der Milz sowie im Blut gelang ihr Nachweis nur durch das Kulturverfahren, in der Galle auch auf diese Weise nicht.

#### B. Emphysematöse Magenentzündung.

XVI. Ca. 75 kg schweres Schwein aus einer Herde, die 10 Tage vorher zugeführt und in einen mit Schweinepest infizierten Stall eingestellt wurde, ohne vorherige wahrnehmbare Krankheitserscheinungen am 30. Juli 1913 verendet.

Magen mäßig erweitert, der seröse Ueberzug injiziert, die Wand elastisch weich, am Fundus bis auf 1—3 cm verdickt; von der Schnittfläche ergießt sich viele, mit Gasbläschen vermengte Flüssigkeit. Die Schleimhaut in der Nähe des Pylorus hyperämisch, am Fundus dunkelrot, verdickt, neben stellenweise mit schmutzig-gelblichbraunem, gekörntem Belag. Submucosa und Muscularis daselbst dunkelrot und serös infiltriert. In den übrigen Organen und in der Muskulatur nichts Abnormes.

In der Serosität der Magenwand zum Teil sporenhaltige Bazillen; keine Fäden. In der Milz neben Stäbchen auch Fäden.

XVII. 105 kg schweres,  $1\frac{1}{2}$ -jähriges Schwein aus einem Bestande von 182 Stück, der am 27. Okt. 1913 zugeführt wurde; es versagte 2 Tage später das Futter, wurde alsbald schwer krank und ist infolgedessen am 31. Dez. notgeschlachtet worden.

Magen auffallend vergrößert; der seröse Ueberzug stellenweise stark injiziert und auch mit kleinen Blutungen gesprenkelt. Die Magenwand fühlt sich beim Betasten bedeutend verdickt an und auf dem Durchschnitt weist sie, entsprechend dem Fundus, eine Dicke von 2—3 cm auf. An der Verdickung nimmt sowohl die Muscularis wie die Schleimhaut teil, und beide sind mit viel rötlicher, seröser Flüssigkeit infiltriert; die

Schleimhaut stellenweise dunkelrot verfärbt und mit bis hellergroßen, gelblichbraunen, membranösen Auflagerungen bedeckt. Im Pylorusteile ist die Wand  $\frac{1}{2}$ —1 cm dick, fast ausschließlich infolge seröser Infiltration der Submucosa. Die Lymphknoten an der Magenkurvatur vergrößert, graurot. In den übrigen Organen und in der Muskulatur keine Veränderungen.

Bazillen, zum Teil sporenhaltig, konnten ausschließlich in der Oedemflüssigkeit der Magenwand nachgewiesen werden.

XVIII. Schwein aus demselben Bestande wie No. XVII; am 17. Dez. 1913 im Stalle tot aufgefunden.

In der Magenserosa Gefäßinjektion und kleine Blutergüsse. Magenwand am Fundus und in noch höherem Grade in der Nähe des Pylorus verdickt. Im Innern wenig Futter und ziemlich viel gelblich braune, trübe Flüssigkeit. Die Schleimhaut in der Umgebung der Cardia gelblich oder gelbrötlich, glatt; am Fundus, dessen Wand sich gummiähnlich anfühlt, schmutzigrot verfärbt, geschwollen, an der Oberfläche körnig, stellenweise mit braunem, kleieähnlichem Belag; Submucosa durch seröse Infiltration auf 2—10 mm verbreitert. Schleimhaut des Pylorusteiles dunkel graurot und durch hellrote Flecke bunt gestaltet, außerdem mit linsen- bis mandelgroßen, lichtgelben, 1 bis 3 mm dicken, scharf umschriebenen, leicht abziehbaren, diphtheritischen Auflagerungen bedeckt, darunter vom Epithel entblößt; die Magenwand dieses Teiles auf 1 bis 3,5 cm verdickt, von fester Konsistenz; die Verdickung durch eine hochgradige seröse Infiltration der Muscularis und Submucosa bedingt.

Im Oedem der Magenwand sporenlose Bazillen, sonst der mikroskopische Befund negativ. Dagegen wurden durch das anaerobe Verfahren auch aus der Milz und Leber sowie aus dem Blute Reinkulturen erzielt.

XIX. 63 kg schweres, 1 $\frac{1}{2}$  Jahre altes Schwein eines größeren Bestandes, der am 21. Nov. 1913 angelangt ist und in denselben Stall eingestellt wurde, wo 4 Wochen vorher die Fälle VII und XVIII konstatiert worden sind. In dem Bestande begannen die ersten Erkrankungen an Schweinepest am 1. Dez., und bis zum 11. d. M. mußten 7 Tiere wegen schwerer Erkrankung notgeschlachtet werden. Am letztgenannten Tage zeigte ein Schwein keine Pestveränderungen, dagegen wurde eine Erkrankung des Magens vorgefunden.

Die Magenserosa zeigt in ihrer ganzen Ausdehnung ein dichtes, injiziertes Gefäßnetz und dazwischen bis linsengroße Blutungen. Magenwand, abgesehen von der unmittelbaren Umgebung der Cardia, stark verdickt. Schleimhaut im linken Teil des Fundus graurot, mit viel fadenziehendem Schleim bedeckt, Submucosa  $\frac{1}{2}$ —1 cm dick, stark serös infiltriert. Sonst erscheint die Schleimhaut gerötet oder schmutzigrot und mit 1—2 mm dicken, schmutziggelben, breiigen Auflagerungen bedeckt, oder stellenweise selbst zu solcher Masse umgewandelt. Die sonst in hohem Grade ödematös infiltrierte Submucosa ist an den letzteren Stellen weniger saftreich, sondern eher trocken und von zahlreichen Gasbläschen durchsetzt.

Muscularis bis auf  $\frac{1}{2}$ —1 cm verdickt, graurot, stellenweise durch dunkelrote Flecke oder Streifen bunt gestaltet, saftreich oder im Gegenteil trocken und von Gasbläschen durchsetzt. Zwischen der Cardia und dem Fundus bildet die Schleimhaut und die Submucosa eine 2 cm dicke, sulzige, auf Berührung zitternde Schicht, auf deren Schnittfläche sich eine große Menge einer klaren, gelben Flüssigkeit ergießt.

XX. Schwein aus derselben Herde wie No. XIX; ohne besondere vorangehende Krankheitserscheinungen am 13. Dez. 1913 morgens verendet.

Seröser Ueberzug des Magens, der Gedärme und der Darmwand zeigt eine lebhaft Gefäßinjektion. Magen gebläht, enthält, außer viel Gas, 1 l einer gelblichbraunen, trüben Flüssigkeit und etwas Futter. In der Nähe des Pylorus scheint durch die Serosa die durch braunrote und fahlgelbliche Flecke und Streifen bunt gestaltete Muscularis durch; dabei befinden sich in der Serosa selbst punktförmige bis linsengroße, rundliche oder längliche, zum Teil untereinander zu größeren, schwarzroten Flecken zusammenfließende Blutergüsse. Entlang der kleinen Kurvatur enthält das subseröse Bindegewebe zahlreiche, bis linsengroße Gasbläschen. Die daselbst gelegenen Lymphknoten geschwollen, saftreich und dunkelrot. Die Schleimhaut des Pylorusteiles dunkelbraunrot, mit 1—2 mm dicken, diphtheritischen Auflagerungen bedeckt, stellenweise bis auf 2 mm verdickt.

Das stellenweise fahlgelbe Lebergewebe enthält hirsekorngroße Gasbläschen, größtenteils zerstreut, in einem Lappen oder dicht nebeneinander in großer Zahl (6 Stunden später sind die Bläschen bedeutend zahlreicher, bis linsengroß und heben die Serosa stellenweise ab). Aus den Blutgefäßen entleert sich schaumiges Blut (die Obduktion wurde kurze Zeit nach dem Tode vorgenommen!). Herzmuskulatur graurot, glanzlos, mürbe. Nieren ebenfalls graurot und brüchig. Die Blutgefäße der weichen Hirnhaut erweitert.

In der Serosität der Magenwand, am Bauchfell, in der Leber und Milz, am Herz-

beutel und in der Herzbeutelflüssigkeit, im Herzblut, unter der Nierenkapsel und auf der weichen Hirnhaut zahlreiche, größtenteils zu langen Fäden ausgewachsene Bakterien. Keine Sporen.

XXI. Schwein aus demselben Bestande wie No. XV, XIX und XX; verendet am 26. Dez. 1913; obduziert am 28. Dez., war aber bei dem kalten Wetter im Freien gut konserviert.

Seröser Magenüberzug, besonders in der Nähe des Pylorus und am Fundus injiziert und mit bis linsengroßen Blutungen gesprenkelt; die Wand dieser Teile auffallend verdickt. Schleimhaut fahlbraun, stellenweise schmutzigrot, 1–2 mm dick, in grobe Falten gelegt. Submucosa 0,5–2,0 cm dick, beim Einschnitt knisternd, auf die Schnittfläche ergießt sich viele rötliche, gasbläschenhaltige, seröse Flüssigkeit. Muscularis serös infiltriert. Lebergewebe an einzelnen Stellen fahlgelb und von Gasbläschen durchsetzt, die auch die Serosa emporheben. Sonst nichts Abnormes.

In der Serosität der Magenwand zum Teil sporenhaltige Stäbchen, ebenso in der Leber und in der Milz, hier aber auch vereinzelte lange Fäden; solche in größerer Zahl auf der Oberfläche der Leber, Milz und Lunge. Durch das Züchtungsverfahren ließen sich die Bakterien auch im Herzblut nachweisen.

XXII. Läuferschwein, 1¼ Jahr alt, am 9. Februar 1914 in einem mit Schweinepest stark infizierten Bestande notgeschlachtet.

Auf Schweinepest hinweisende Veränderungen nicht vorhanden, dafür fiel die Magenveränderung auf. Die Serosa der Magenwand war lebhaft injiziert, auch waren deutliche, kleine Blutungen zu erkennen. Die größeren Blutgefäße hoben sich als schwarze Stränge von der lebhaft roten Umgebung ab. In der Fundusgegend war die Magenwand auf 0,5–2 cm verdickt, elastisch und knisterte unter dem Fingerdruck. Die Schleimhaut blutig-serös infiltriert, schmutzig-rotbraun verfärbt; die Oberfläche, einer Nußschale ähnlich, uneben, mit viel Schleim, stellenweise mit kleieartiger Schicht bedeckt. Die Submucosa mit rötlich-seröser Flüssigkeit stellenweise bis auf 10–15 mm Dicke infiltriert, mit zahlreichen, kleinen, stecknadelkopfgroßen Gasbläschen durchsetzt und beim Einschnitten knisternd. Die Darmserosa lebhaft injiziert, schmutzigrot, die Darmschleimhaut entzündlich gerötet. Die Herzmuskulatur parenchymatös degeneriert, gekochtem Fleisch ähnlich, mürbe.

In der serösen Flüssigkeit der Magenwand viele Bazillen mit ovalen Sporen und einige kurze Ketten. Auf der Leberoberfläche Fäden, in der Leber stäbchenförmige Bakterien, teilweise kettenförmig gegliedert.

Aus den Organen wurde der Ghon-Sachssche Bacillus in Reinkultur gewonnen.

XXIII. Am 9. Februar 1914 ist in derselben Herde ein zweites Schwein umgestanden.

Magenserosa in der Pylorus- und Fundusgegend blutig injiziert, gerötet, fleckenweise dunkelrot oder mit kleinen Blutungen besetzt. Magenwand, mit Ausnahme des Hohlspaces, in ihrer ganzen Ausdehnung geschwollen, beim Betasten gummiähnlich elastisch, an den dunkelroten Stellen von fester Konsistenz. Die Schleimhaut schmutzig-gelblich und braunrot verfärbt, stellenweise hellrot. An den festen Partien uneben, der Oberfläche einer Nußschale ähnlich und mit kleieartigem, gelbem Belag oder mit hellgelber, bröckeliger, 8–10 mm dicker, diphtheritischer Schicht bedeckt. Submucosa überall mit rötlicher seröser Flüssigkeit infiltriert und erreicht an manchen Stellen, besonders wo die Serosa röter und auch die Schleimhaut infiltriert ist, eine Dicke bis zu 10 mm. An diesen Stellen ist die Infiltrationsflüssigkeit geronnen. Die Infiltration erstreckt sich hier auch auf das intermuskuläre Bindegewebe, das sich von der Muskulatur kaum unterscheiden läßt. In der Umgebung der subserösen Blutungen ist auch die Muskulatur blutig infiltriert und durch schwarzrote Flecke bunt gestaltet.

Die Leber fahlgelblich, auf der Oberfläche und auch in der Tiefe mit Gasbläschen durchsetzt und daher schwammig. Im Herzbeutel etwa 15 ccm einer rötlichen, trüben, serösen Flüssigkeit. Herzmuskulatur, Lunge, Gedärme und Nieren normal.

In der Magenwand, der Leber, im Herzmuskel, im Herzblut stäbchenförmige Bakterien, einige auch zu Ketten aneinandergereiht. Auf der weichen Gehirnhaut lange Fäden, in der Herzbeutelflüssigkeit viele ovale, geblähte Formen.

Der Ghon-Sachssche Bacillus wurde aus mehreren Organen in Reinkultur gewonnen.

XXIV. Läuferschwein, etwa 1¼ Jahr alt, am 8. April 1914 umgestanden. Sektion nach 16 Stunden. Fäulniserscheinungen, abgesehen von der Leber, mäßig entwickelt.

Die Serosa der Magenwand in der Fundusgegend hellrot, lebhaft injiziert und mit kleinen, hellroten Blutungen versetzt. Die Magenwand ist hier bis auf 5–15 mm Dicke geschwollen und beim Betasten teils fest, teils gummiähnlich elastisch.

Die Magenschleimhaut braunrot, fleckenweise ziegelrot verdickt, hier und da mit

einer kleieähnlichen Schicht bedeckt. Die Submucosa in der Fundusgegend und in deren Umgebung mit gelber, seröser Flüssigkeit infiltriert und auf 2—3 mm verdickt.

Die Muskulatur der Funduswand dunkelrot, blutig-serös infiltriert und von zahlreichen Gasbläschen durchsetzt. Magenglandern dunkelrot, vergrößert. Leber schwammig, trocken und knisternd.

In der Magenwand, der Leber, Milz, im Herzblut, in der Herzbeutelflüssigkeit stäbchenförmige Bakterien, viele mit ovalen Sporen; in den ersterwähnten 3 Organen außerdem noch Fäden.

Der Ghon-Sachsche Bacillus wurde aus allen Organen in üppigen Reinkulturen gewonnen.

XXV. Versuchsferkel, etwa 25 kg schwer, am 28. Juni 1914 umgestanden. In der Magenwand ähnliche Veränderungen wie bei No. XXIV.

In der Oedemflüssigkeit der Magenwand, der Leber, im Herzbeutel, in der Milz zahlreiche Bazillen, größtenteils mit ovalen Sporen im Innern; am Bauchfell und auf der Leberoberfläche Stäbchen, ebenfalls viele mit Sporen, außerdem auch Fäden.

Aus der Magenwand, Leber und Milz wuchsen Reinkulturen des Ghon-Sachschen Bacillus.

XXVI. Anatomisches Präparat aus dem Jahre 1911 von einem Schwein einer mit Schweinepest infizierten Herde. Obwohl bei der Obduktion sonst auf diese Krankheit hinweisende Organveränderungen nicht vorhanden waren, wurde seinerzeit die hochgradige Magenentzündung auf eine Pestinfektion zurückgeführt.

Im serösen Ueberzug einige kleine Blutungen. Magenwand 2—3 cm dick. Die Schleimhaut zeigt eine höckerige Oberfläche und ist an manchen Stellen vom Epithel entblößt, an anderen mit fibrinösen Auflagerungen belegt. Submucosa bis auf 2 cm verdickt, gallertig und zeigt zahlreiche, bis hirsekorngroße Aushöhlungen, die ihr ein schwammiges Aussehen verleihen. Muscularis stellenweise ebenfalls verdickt und mit dunkel braunroten Punkten und Streifen gesprenkelt.

Der Umstand, daß es in allen untersuchten 26 Fällen gelang, in den krankhaft veränderten Geweben durch bakteriologische Methoden ein und dasselbe spezifisch pathogene Bakterium nachzuweisen, spricht für die ätiologische Identität der Krankheitsfälle. Die herausgezüchteten Bakterienstämme stimmten tatsächlich in allen wesentlichen Eigenschaften überein; geringfügige Unterschiede aber, so, daß die Stämme No. III, X und XVIII die Milch ab und zu koagulierten, oder, daß die Stämme No. I, V, XIII, XIV, XVII und XVIII das Mannit in geringem Grade zersetzten, haben wohl hinsichtlich der Identifizierung keine weitere Bedeutung.

Die ätiologische Identität wurde ferner dadurch bewiesen, daß pericardiale Flüssigkeit eines mit Magenentzündung behafteten Tieres (No. XX), ferner eine Reinkultur aus der kranken Magenwand (No. XVI) bei Schweinen nach intramuskulärer Injektion die typische Muskelerkrankung mit Gasbildung hervorgerufen hat.

Der gegenteilige Beweis konnte leider bisher nicht erbracht werden. Es gelang mir nämlich in keinem Falle, durch Verfütterung von Reinkulturen, frischen kranken Muskelstücken, 110 ccm Mageninhalt oder 30 g kranker Muskelwand, die typische Magenentzündung zu erzeugen, und zwar auch dann nicht, wenn das bakterienreiche Material vorher mit feinen Glasstückchen vermengt wurde. Diese negativen Versuchsergebnisse bedeuten wohl eine Lücke in der Kette der Beweise, schließen aber selbstverständlich durchaus nicht die Identität der 2 Krankheitsprozesse aus, sondern zeigen nur, daß das Zustandekommen der Mageninfektion von gewissen Nebenbedingungen abhängig ist, die sich zurzeit noch dem experimentellen Nachweise entziehen.

Sonst sprechen alle Erfahrungen in eindeutiger Weise für die Richtigkeit der Annahme, daß die rauschbrandähnliche Muskelerkrankung und die bradsotähnliche Magenentzündung der Schweine durch ein und dasselbe anaerobe Bakterium verursacht werden und daher die anatomisch scheinbar

verschiedenen zwei Krankheitsprozesse in ätiologischer Beziehung identisch sind.

Eine weitere Frage ist nun, ob die gefundenen anaëroben Bazillen als mit dem des Rauschbrandes oder des malignen Oedems oder überhaupt mit einem der bisher bekannten Bakterienarten identisch betrachtet werden können.

Zur diesbezüglichen leichteren Orientierung habe ich die wichtigsten biologischen Merkmale der hier in Betracht kommenden Bakterienarten in der Tabelle IV übersichtlich zusammengestellt:

Tabelle IV.

Bakterienart	Fadenbildung	Geblähte Formen	Kulturen				Hirnbrei	
			Agarstrich	Agarstich	in Milch	auf erstarrtem Blutserum	Färbung	Reaktion
Rauschbrand	keine	zahlreich	runde, blasse Kolonien	runde, geschlossene Kolonien	Gerinnung	wie auf Agar	rosarot	sauer
Oedema malignum	ausgeprägt	spärlich	eventuell mit Ausläufern	nicht geschlossene runde Kolonien	Peptonisierung	wird verflüssigt	grünlichgrau	alkalisch
Bazillen von Ghon und Sachs	"	"	Eisblumen oder baumähnliche Verzweigungen, feines Netz	dgl.	bleibt flüssig	wie auf Agar	rosarot	sauer
Eigene Stämme	"	"	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	"	"

Der Rauschbrandbacillus bildet, nach den jüngsten vergleichenden Untersuchungsergebnissen von Foth, Hibler, Kitt und Wulf, bekanntlich niemals im Tierkörper Fäden, dahingegen wachsen die Bazillen des malignen Oedems darin zu langen Fäden aus. Es ist dies ein so gewichtiger Unterschied, daß man auf dieser Grundlage die anaëroben Bazillen überhaupt in 2 getrennte Gruppen zusammenzufassen pflegt. Der von mir untersuchte Bacillus bildet sowohl in den Organen als auch im Blute mehr oder weniger lange Fäden, und schließt sich daher in dieser Eigenschaft dem Oedembacillus an.

Die Gestalt und Größe der Sporen, sowie ihr Sitz im Bazillenleibe zeigt bei allen 3 Bakterien derartige Schwankungen, daß sie für keines derselben deutliche Merkmale darstellen.

Ständige und deutliche Unterschiede ergeben sich je nach der Art des Wachstums auf gewissen künstlichen Nährböden.

Während nämlich die Milch durch den Rauschbrandbacillus lediglich zur Gerinnung gebracht, das erstarrte Blutserum aber überhaupt nicht verändert wird, beobachtet man beim Oedembacillus in der Milch, außer der Gerinnung, auch eine Verdauung (Peptonisierung) des Gerinnsels und im erstarrten Blutserum ebenfalls ein Einschmelzen des Nährbodens. Der aus den Schweineorganen gezüchtete Bacillus bewirkt ausnahmsweise eine Gerinnung der Milch und schmilzt das Blutserum

nicht ein; er steht somit diesbezüglich näher dem Rauschbrandbacillus als dem Oedembacillus.

Drigalski-Conradis Lackmusagar wird durch alle 3 Arten binnen 36—48 Stunden entfärbt; ein gewisser Unterschied ergibt sich nur darin, daß der Oedembacillus, vermöge seines rascheren und üppigeren Wachstums, die Entfärbung des Nährbodens intensiver bewirkt. Nach der Entfärbung stellt sich hinterher gewöhnlich eine Rötung des Nährbodens ein, und zwar derart, daß sie beim Oedembacillus selten vor dem 10. Tage deutlich wird, dagegen bei den 2 anderen Arten zu- meist schon in 4—8 Tagen erfolgt; immerhin gibt es Stämme, bei denen diese Farbenänderung auch nach 2—3 Wochen nicht beobachtet wird.

Der hauptsächlichste Unterschied macht sich bei Züchtung auf Hiblers Hirnbrei geltend. Durch den Rauschbrandbacillus und den hier beschriebenen Bacillus wird nämlich der ursprüngliche Säuregehalt des Nährbodens noch erhöht und seine Farbe überhaupt nicht, oder höchstens schwach ins Rosarot verändert. Hiermit im Gegensatz wird durch die Kultur des Oedembacillus die schwach saure Reaktion des Hirnbreies alsbald neutralisiert und sogar in eine alkalische umgewandelt, womit eine gleichmäßig bläulichgrüne oder grünlichgraue Verfärbung des Nährbodens einhergeht. In dieser Beziehung stimmt somit unser Bakterium mit dem Rauschbrandbacillus überein.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen den von mir gezüchteten 21 Stämmen und den Oedembazillen besteht darin, daß sie in mannit- und glyzerinhaltiger Bouillon nur ausnahmsweise, und auch dann nur wenig, Gas produzieren, wohingegen die Oedembazillen sich darin durch üppiges Wachstum und ausgiebige Gasbildung kennzeichnen.

Weitere Unterschiede ergeben sich in der Pathogenität für verschiedene Tiergattungen, indem es beispielsweise mit Rauschbrandbacillus Pferde überhaupt nicht und Schweine nur ausnahmsweise gelingt mit Erfolg zu infizieren, dagegen Pferde sich für Oedembazillen und Schweine für die von mir gezüchteten Bakterien sehr empfänglich erweisen. Ferner sind Oedembazillen für Kaninchen fast immer, die anderen 2 Bakterienarten nur ausnahmsweise pathogen, endlich lassen sich Tauben mit Rauschbrandbazillen nur in einzelnen Fällen, dagegen durch meine Bazillen sehr leicht krank machen. Die mit den einzelnen Bakterienarten von verschiedenen Forschern erzielten Impfresultate habe ich in der Tabelle V zusammengestellt.

Hiernach stimmen die aus 21 Schweinen gezüchteten Bakterien weder mit den Rauschbrandbazillen, noch mit den Oedembazillen ganz überein, vielmehr unterscheiden sie sich von beiden in wesentlichen Eigenschaften, dagegen sind sie laut Hiblers Angaben in Tabelle V in jeder Beziehung identisch mit dem Bacillus, der von Ghon und Sachs aus der gangränösen Schenkelmuskulatur eines Mannes gezüchtet und eingehend untersucht wurde (s. S. 41). Sie selbst zählten ihn zu den echten Oedembazillen, Hibler zeigte aber, daß der Bacillus, ebenso wie 6 von ihm selbst gezüchtete Stämme, neben den Rauschbrand- und Oedembazillen eine Sonderstellung einnimmt; außerdem darf man fast mit voller Sicherheit annehmen, daß je 3 Stämme von Markoff und von Regn mit ihm identisch sind. In einem Falle von Pseudoraus- chbrand wurde er von Schlemmer aus der Milz eines Fohlens ge- züchtet, ich selbst fand ihn in der kranken Muskulatur eines Kalbes. Unter solchen Umständen ist es ziemlich auffallend, daß Foth unter seinen zahlreichen fadenbildenden, anaëroben Stämmen, die rauschbrand-



Tabelle V.  
Empfänglichkeit der Versuchstiere.

Bakterienart	Autor	Empfänglichkeit der Versuchstiere						
		Meer- schwein- chen	Kanin- chen	Taube	weiße Maus	graue Maus	graue Ratte	weiße Ratte
Rauschbrand- bacillus	Kitt	+	±	±	.	.	.	.
	Hibler	+	+	±	+	.	—	+
	Foth	+	—	±	.	.	±	.
	Wulff	+	—	—	.	.	—	—
	Markoff	+	±	±	±	±	.	.
Oedembacillus	Kitt	+	+	+	+	.	+	.
	Hibler	+	+	+	+	.	+	+
	Foth	+	+	+	.	.	+	.
	Markoff	+	+	.	+	+	.	.
Bacillus von Ghon und Sachs	Ghon u. Sachs	+	±	+	+	.	.	+
	Hibler	+	+	+	.	.	+	+
Eigene Stämme	Köves	+	±	+	+	+	.	.

Zeichenerklärung: + = empfängliche, ± = ausnahmsweise empfänglich, — = nicht empfänglich.

ähnliche Veränderungen verursacht hatten, keinen einzigen von den Bazillen des malignen Oedems abgetrennt hat.

Die Tatsache, daß alle meine 21 Stämme mit den von Hibler von Menschen und Rindern erhaltenen 6 Stämmen und mit dem von Ghon und Sachs bei einem Menschen gefundenen Stamm vollkommen übereinstimmen, dagegen sich von den Bazillen des Rauschbrandes und des malignen Oedems wesentlich unterscheiden, weist darauf hin, daß es sich um eine weitverbreitete, aber bisher wenig beachtete Bakterienart handelt, die bei den als „Gasbrand“ und „Pseudorausbrand“ zusammengefaßten Erkrankungen offenbar eine wichtige Rolle spielt. Weitere genaue bakteriologische Untersuchungen werden voraussichtlich nähere Aufklärungen über diese Rolle erteilen, wobei unter anderem besonders die Züchtung der Krankheitserreger in Hiblers Hirnbrei heranzuziehen sein wird, während allein die mikroskopische Untersuchung und namentlich der eventuelle Nachweis von Fäden für die genaue Diagnose als unzureichend betrachtet werden muß.

Für die hier beschriebene Krankheit der Schweine sowie für Krankheitsprozesse überhaupt, als deren Erreger sich der anaerobe Bacillus von Ghon und Sachs nachweisen läßt, möchte ich mit Rücksicht auf manche Ähnlichkeiten einerseits mit dem Rauschbrand (*Gangraena emphysematosa*, *Emphysema gangraenosum*), andererseits mit dem malignen Oedem (*Oedema malignum*), sowie auf die hauptsächlichsten anatomischen Veränderungen, die Bezeichnung ödematöses Emphysem (*Emphysema oedematosum*) vorschlagen.

#### Literatur.

- 1) Bahr, Einige Gärungsversuche mit Bazillen der Oedembazillengruppe. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. Bd. 9. 1911. S. 225.)
- 2) Balás, Serczegő üszök sertésben. (Hússzemle. 1911. p. 82.)



- 3) Baumgarten, Lehrbuch der pathogenen Mikroorganismen. Leipzig 1911.
- 4) Battistini, La Clin. veterin. 1897; Ref. im Jahresber. etc. d. Veterinärmed.
- 5) Born, Serczegő üszök és rosszindulatú vizenyő sertésben. (Veterinarius. 1897. p. 441.)
- 6) Carl, Malignes Oedem bei Haustieren. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathogen. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 4. S. 865.)
- 7) Foth, Die Diagnose des Rauschbrandes. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. Bd. 6. 1909. S. 201 u. Bd. 8. 1910. S. 117.)
- 8) — Die bakteriologische Diagnose des Milzbrandes und des Rauschbrandes in der veterinärpolizeilichen Praxis. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1910. S. 93.)
- 9) Ghon und Sachs, Zur Aetiologie des Gasbrandes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903 u. Bd. 35. 1904. S. 665.)
- 10) Glässer, Die Krankheiten des Schweines. Hannover 1912.
- 11) Grassberger und Schattenfroh, Buttersäuregärung. (Arch. f. Hyg. Bd. 48. 1903. H. 1.)
- 12) Hibler, Untersuchungen über die pathogenen Anaëroben. Jena 1908.
- 13) — Rauschbrand. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathogen. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 4. S. 788.)
- 14) Hutya und Marek, Spezielle Pathologie u. Therapie d. Haustiere. 4. Aufl. 1913.
- 15) Kitt, Bakterienkunde und path. Mikroskopie. 5. Aufl. 1900.
- 16) — Rauschbrand. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathogen. Mikroorganism. 1. Aufl. 1903.)
- 17) Kolle und Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 1908 u. 1911.
- 18) Marek, Rauschbrandfall beim Schweine. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 7. 1896. S. 489.)
- 19) — Ein neuer Rauschbrandfall beim Schweine. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 8. 1897. S. 174.)
- 20) Markoff, Vergleichende bakteriologische und serologische Studien über Rauschbrand und Pseudorausbrand. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. S. 188.)
- 21) Müller, Ueber die Behinderung der Fäulnis in Organen durch Kochsalz und die Einwirkung von Kochsalz auf die Vitalität pathogener Bakterien. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. Bd. 7. 1910. S. 30.)
- 22) Ostertag, Kommt Rauschbrand beim Pferde vor? Ein Beitrag zur bakteriologischen Feststellung des Rauschbrandes. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. etc. Bd. 3. 1909. S. 93.)
- 23) Rátz, A sertések fogékonyága a serczegő üszökkel szemben. (Állatorvosi Lapok. 1912. p. 603.)
- 24) Regn, Der Bakteriengehalt des vom Rauschbrand befallenen Muskelgewebes und der Rauschbrandimpfstoffe. [Inaug.-Dissert.] Berlin 1904.
- 25) Werdt, Malignes Oedem. Der Gasbrand und seine Erreger. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathogen. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 4.)
- 26) Willenberg, Ein Fall von Rauschbrand beim Schwein. (Berlin. tierärztl. Wochenschrift. 1908. S. 734.)
- 27) Wulff, Vergleichende Untersuchungen mit rohem und getrocknetem Rauschbrandvirus. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 10. 1910. S. 241—268.)
- 28) — Ueber Rauschbrand und rauschbrandähnliche Erkrankungen. (Deutsch. Tierärztl. Wochenschr. 1912. S. 609, 625 u. 689.)
- 29) — Die Rauschbranddiagnose durch Untersuchung der Galle. (Deutsch. Tierärztl. Wochenschr. 1912. S. 705.) (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Chemie der Amöben.

Von P. G. Unna und Eleonore Th. Tielemann.

Mit 1 Tafel.

Inhaltsübersicht: Einleitung. I. Methodik. 1. Material. 2. Fixation. 3. Färbungen. II. Chromolytische Analyse. Vorbemerkung. 1. Hämatoxylin. 2. Polychrome Methylenblaulösung. 3. Giemsa-Lösung. III. Ergebnisse der Histochemie der Amöben.

### Einleitung.

Die Chemie der Amöbe hat nicht nur ein Interesse für die allgemeine Biologie, sondern noch ein ganz besonderes für die allgemeine Pathologie und Therapie. Seitdem Metschnikoff die Lehre aufstellte, daß die Leukocyten im tierischen Körper die Rolle von Bakterien fressenden und vernichtenden Amöben spielten, ist allgemein von Aerzten, Pathologen sowohl wie Hygienikern, das Wesen der Leukocytenbeteiligung am Entzündungsprozesse in diesem Sinne aufgefaßt worden. Es soll, so meint man ganz allgemein, zwischen Bakterien und Leukocyten ein ähnliches Verhältnis bestehen, wie zwischen den Amöben und den Bakterien, welche ihnen zur Nahrung dienen.

Mit einigen Einschränkungen zugunsten der bakteriziden Eigenschaften des Serums gilt diese Anschauung noch heute, obwohl schon seit mehr als 20 Jahren die Theorie der Phagocytose im Sinne von Metschnikoff für die Tuberkulose, Lepra, furunkulöse Entzündung und das Erysipel histopathologisch widerlegt ist, und obgleich das Tripperssekret, das einzige Entzündungsprodukt, welches, nach außen entleert, uns täglich Leukocyten und Bakterien im Kampf vorführt, gerade das Gegenteil von dem lehrt, was Metschnikoff behauptet. Die Gonokokken würden zugrunde gehen, wenn sie ihren besten Nährboden, die Leukocyten, nicht anzulocken vermöchten. Sie dringen in die Leukocyten ein, weil sie den von ihrem Kern gespendeten Sauerstoff aufsuchen, und haften an diesem auch dann noch, nachdem sie das Protoplasma der Leukocyten vernichtet haben.

Unter diesen Umständen wirft sich doch für jeden vorurteilslosen Beobachter die Frage auf, ob denn überhaupt der Bau und die chemische Zusammensetzung der Amöben und Leukocyten so ähnlich ist, wie man allein nach der Funktion der amöboiden Bewegung und der damit zusammenhängenden Phagocytose anzunehmen geneigt ist. Tatsache ist doch nur, daß sowohl die Amöben wie die Leukocyten, jene vorzugsweise lebende, diese abgestorbene Bakterien in sich aufnehmen. In den Fällen, wo die Leukocyten auch lebende Bakterien, wie z. B. Gonokokken, zu „fressen“ scheinen, werden sie vielmehr von diesen selbst, wenn man den Ausdruck beibehalten will, „gefressen“, richtiger gesagt: durch Erstickung vernichtet.

Es erscheint daher als eine lohnende Untersuchung, näher auf die chemischen Bestandteile der Amöbe einzugehen, die wir noch sehr wenig kennen, und sie mit den entsprechenden Bestandteilen der Leukocyten zu vergleichen. Es wird sich dabei herausstellen, daß beiden Arten

von Organismen nur die amöboide Bewegung, die zum Umfließen von Fremdkörpern und zur Aufnahme derselben führt, gemeinsam ist, daß aber alle chemischen Eigenschaften derselben grundsätzlich verschieden sind. Das Urteil, welches eine genaue histopathologische Forschung schon seit langer Zeit über die Hinfälligkeit der Metschnikoffschen Phagocytose in ihrer Anwendung auf die menschliche Pathologie gefällt hat, wird somit auch von seiten der chemischen Forschung gestützt. Der Vorgang der sogenannten Phagocytose ist eben in beiden Fällen ein grundverschiedener.

## I. Methodik.

### 1. Material.

Die Amöbenkultur wird am besten in der Weise angelegt, daß man in einem breiten Zylinderglase eine Hand voll Heu mit 2 l Wasser übergießt. Gut zugedeckt, um die Kultur vor Staub zu schützen, läßt man das Gefäß an einem warmen Orte stehen und wird nach einigen Tagen auf der sich bildenden Kahmhaut in den meisten Fällen Amöben in größerer Zahl vorfinden. Zweckmäßigerweise setzt man mehrere solcher Gefäße gleichzeitig an, um sicher zu gehen, Amöben zu erhalten. Beabsichtigt man, auf Agar weiterzuzüchten, so richtet man sich am besten nach den Kulturvorschriften, wie sie v. Wasielewski hierfür in seiner Arbeit: „Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkerns“<sup>1)</sup> gegeben hat. Man wird diese ausgezeichnete Methode stets mit Erfolg anwenden. Für unsere Zwecke aber sahen wir von deren Anwendung ab. Die Deckgläser sind für die Ausführung der chromolytischen Behandlung ungeeignet, da sie dem mehrfachen Wechsel der Flüssigkeiten beim Lösen, Abspülen und Färben nicht standhalten. Schon aus diesem Grunde war es für unseren Zweck notwendig, die Amöben auf Objektträger zu bringen; auch sind diese natürlich viel handlicher als Deckgläser.

Damit fiel auch die Notwendigkeit der Züchtung der Amöben auf Agar weg, und wir griffen wieder auf die ursprüngliche Züchtung derselben in Heuinfusionen zurück. Reinkulturen sind allerdings auf diese Weise nicht zu gewinnen. Hat man aber erst einmal in einer Kultur Amöben und sie als eine *Limax*-Form<sup>2)</sup> mikroskopisch festge-

1) v. Wasielewski, Zoolog. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontogen. d. Tiere. Bd. 38. 1914. Heft 2

2) v. Wasielewski u. Kühn, Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkerns. (Zoolog. Jahrb. Bd. 38. Abt. f. Anat.)

*Vahlkampfia* (*Dimastigamoeba*?) *bistadialis* Puschkarew (= „Stroh-amöbe I“ v. Wasielewski u. Hirschfeld).

**Kriechformen:** *limax*-ähnlich, Ektoplasma und Endoplasma deutlich getrennt, fließen in einer Richtung mit einem großen lappigen Pseudopodium oder mit mehreren plumpen Pseudopodien. An der Oberfläche der plumpen Pseudopodien oder der abgerundeten Amöbe können sehr kleine spitze Pseudopodien auftreten. Größe: 8–50  $\mu$  im längsten Durchmesser, bestehend aus Außenkern (Kernrandschicht) von 0,5–1,5  $\mu$  Breite und Binnenkörper. Kernteilung: Promitose, hantelförmige Durchteilung des Binnenkörpers, Äquatorialplatte aus Außenkernsubstanz. Kontraktile Vakuole.

**Schwimmformen:** mit 2 Geißeln am Vorderende, die eine nach vorn gerichtet, die andere an den Körper angelegt (im Leben oft schwer sichtbar), Körperform walzenförmig, 10–20  $\mu$  lang, Kern am Vorderende gelegen, unmittelbar hinter der Geißelursprungsstelle, Basalapparat der Geißel vielleicht mit dem Kern verbunden. Kontraktile Vakuole am hinteren Körperende. Bewegung unter Längsdrehung.

**Dauerformen:** Kugelige Zysten mit glatter Hülle, keine Kernveränderungen in der Zyste beobachtet, Ausschlüpfen von einkernigen Kriechformen.

stellt und verimpft man dann Zysten derselben auf frisch hergestellte Heuinfusionen, die bereits einen entwickelten Bakterienrasen enthalten, so kommt bald nur diese eine Art in größerer Menge in der Kultur vor.

In praktischer Beziehung ist es sogar vorteilhafter, auf eine Reinkultur der Amöben ganz zu verzichten. Man erhält nämlich um so leichter Massenkulturen der Amöben, je verschiedenartiger die Formen der zugleich mitkultivierten Bakterien sind, welche der Amöbe als Nahrung dienen. Und auf reich mit Amöben beschickte Objektträger kommt es bei Durchführung der chromolytischen Methode vor allem an, da die Geschwindigkeit der Lösung der Zellbestandteile individuellen Schwankungen unterworfen ist. Da ist es dann von großem Vorteil, alle Stadien der Lösung auf einem Objektträger beisammen zu haben.

Andererseits haben die bakterienhaltigen Kulturen auch ein nicht unerhebliches theoretisches Interesse. Sie zeigen uns nämlich mühelos, wie die Aufnahme und Verdauung der verschiedenen Bakterienarten im Amöbenleibe vor sich geht und wie dieselben sich mit den für die Amöben angewandten Färbungen darstellen. Indem derartige unreine Präparate den verschiedenen Vorbehandlungen zur Lösung einzelner Amöbenbestandteile unterworfen werden, gewinnt man daher nebenbei einen Einblick auch in die Chemie dieser Bakterien, deren sukzessiven Abbau man gleichzeitig im Amöbenbilde verfolgen kann. Genug, das nebenhergehende Studium der bakteriellen Amöbennahrung ist auch für die Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Amöben selbst durchaus nicht gleichgültig. Uebrigens spricht sich diese Unreinheit der Kulturen in den fertigen Präparaten nur wenig aus, da jedes einzelne Präparat vor der Fixierung durch Abspülen die meisten frei liegenden bakteriellen Verunreinigungen verliert und hauptsächlich nur diejenigen übrigbleiben, die in Amöbenleibern eingeschlossen sind. Wo man mithin nicht aus anderen Gründen auf die v. Wasielewskische, mit Deckgläschen arbeitende Agarmethode bei der Züchtung angewiesen ist, kann man sehr gut die ursprünglich allgemein angewandte Methode der Heuinfuse benutzen, welche ja auch für die Beschickung von Objektträgern vollkommen hinreicht.

Es ist zweckmäßig, die Kulturgläser jeden Tag einer mikroskopischen Kontrolle zu unterwerfen. Hat man erst einmal Amöben zahlreich festgestellt, so beschickt man 30—40 Objektträger auf einmal und impft nachher von der Amöbenkultur auf frischen Bakterienrasen weiter.

## 2. Fixation.

Der mit der Pipette auf den Objektträger gebrachte Tropfen der Kultur bleibt  $\frac{1}{4}$  Stunde ungestört, damit die Amöben, die infolge der Berührung Kugelgestalt angenommen haben, beginnen, sich auf der Glasseite fortzubewegen. Nach dieser Zeit wird man bei mikroskopischer Kontrolle wahrnehmen, daß die meisten Amöben in lebhafter Bewegung begriffen sind und fortfahren, Nahrung aufzunehmen und sich zu teilen. Nun spült man vorsichtig durch sanften Wasserstrahl mittels der Pipette die darüberstehende, bakterienhaltige und meist stark verunreinigte Flüssigkeit ab. Die Amöben bleiben zum größten Teil in ausgebreitetem Zustand am Glase haften. Man setzt das vorsichtige Abspülen so lange fort, bis das Präparat möglichst rein ist, d. h. nur noch aus Amöben und wenigen Bakterien besteht. — Die darauffolgende mikroskopische Kontrolle muß möglichst rasch geschehen, damit der Tropfen nicht inzwischen eintrocknen kann. Dann legt man den Objektträger umgekehrt,

mit der Amöbenseite nach unten, auf den weiten Hals einer Glasflasche, die 2 Proz. Osmiumsäure enthält, und setzt sie etwa 5 Sekunden der fixierenden Einwirkung von Osmiumdampf aus. Dann kann man ruhig die Präparate an der Luft der Eintrocknung überlassen, ohne befürchten zu müssen, daß dieselbe auf die Amöben einen schädigenden Einfluß hat; auch kann man die Präparate nun beliebig lange aufbewahren, wenn man sie später verwenden will.

### 3. Färbungen.

Die klassische Färbung aller Amöben ist bisher stets die Hämatoxylinfärbung gewesen, und zwar wurde meistens eine Eisenhämatoxylinlösung oder auch Hämalaun (Mayer) zu diesem Zwecke benutzt. Wir haben die gebräuchlichsten, bei Dr. Hollborn (Leipzig) vorrätigen Hämatoxylinlösungen sämtlich für die Amöbenfärbung zu verwerten gesucht.

Ganz unbrauchbar erwiesen sich nur die sehr sauren Lösungen von Ehrlich, Friedländer und Hansen. Auch mit der Delafield'schen Lösung hatten wir keine besonders guten Resultate. Dagegen bewährte sich die Lösung von Böhmer, das Mayersche Hämalaun und Weigerts Eisenhämatoxylinlösung. Zwischen den ersten beiden bestand kein wesentlicher Unterschied. Die unten gemachten Angaben beziehen sich alle auf eine alte, gereifte Böhmersche Lösung. Weigerts Eisenhämatoxylinlösung überfärbt leicht und bedarf dann einer regressiven Entfärbung, was beim chromolytischen Arbeiten natürlich zu vermeiden ist. Aus demselben Grunde konnten wir die von vornherein zu stark anfärbende Lösung von Eisenhämatoxylin nach Heidenhain ebenfalls nicht gebrauchen.

Neben der Hämatoxylinfärbung hat sich bei uns der Gebrauch der polychromen Methylenblaulösung eingebürgert. Sie gibt über die sauren Bestandteile des Amöbenleibes eine ebenso vollständige Uebersicht wie Hämatoxylin über die basischen. Eine befriedigende Anschauung von der vollständigen Struktur der Amöbe erhält man nur durch einen Vergleich dieser beiden sich ergänzenden Farbbilder.

Einen wesentlichen Fortschritt in dieser Hinsicht erzielte neuerdings v. Wasielewski<sup>1)</sup> durch Verwertung der Giemsa-Lösung für die Histologie der Amöbe. Es gelang ihm damit zum ersten Male, die Kernstruktur der Amöbe aufzuklären und er konnte zeigen, daß nur der „Außenkern“ ein Analogon bietet zu den übrigen nach Giemsa färbaren Protozoenkernen.

Die von uns benutzten Färbungsvorschriften lauten daher, wie folgt:

#### a) Hämatoxylin.

1. Wässern der Präparate 5 Minuten.
2. Man gießt die Farblösung auf den Objektträger und läßt sie 5–6 Stunden einwirken (vor Verdunstung schützen!).
3. Abspülen in Leitungswasser.
4. Nochmaliges Wässern der Präparate 5 Minuten lang in Leitungswasser.
5. Lufttrocknen und Kanadabalsam.

#### b) Polychrome Methylenblaulösung (Hollborn).

1. Wässern der Präparate 5 Minuten.
2. Man gießt die Farblösung auf den Objektträger und läßt sie 5 Minuten einwirken.
3. Abspülen in Leitungswasser.
4. Differenzieren mit 70-proz. Alkohol unter 25–30maligem Hin- und Herschwenken des Objektträgers.

1) v. Wasielewski, a. a. O.

5. Lufttrocknen.
6. Einschließen in Zedernöl (nicht in Balsam).

c) Giemsa-Lösung (Hollborn).

1. Wässern der Präparate 5 Minuten.
2. Giemsa-Lösung: auf 1 ccm destilliertes Wasser 1 Tropfen Stammlösung  $\frac{1}{2}$  Stunde.
3. Ersetzen der Farblösung durch frisch bereitete Giemsa-Lösung 2—4 Stunden.
4. Abspülen in destilliertem Wasser.
5. Differenzieren in leicht angesäuertem Wasser.
6. Abspülen in destilliertem Wasser.
7. Lufttrocknen und Zedernöl.

Anmerkung: Damit der durch den Wasserzusatz ausgeschiedene Farbstoff die Unterseite des Objektträgers berührt, stützt man den Objektträger durch 2 aufeinander liegende Stückchen eines zerbrochenen Objektträgers. Die Amöbenkultur berührt dann gerade den zur Färbung dienlichen ausgeschiedenen Farbstoff der Giemsa-Lösung.

## II. Chromolytische Analyse.

### Vorbemerkung.

Die allgemeine Voraussetzung, mit welcher wir an die chromolytische Analyse der *Amoeba limax* herangingen, war die Erwartung, in ihnen mit der für die Zellen der Metazoen bewährten Methode zunächst verschiedene Eiweißkörper zu finden, dann aber auch vielleicht gewisse Lipide nachweisen zu können. Denn diese Protozoen sind durch ihre Lebensweise auf feuchte Bakterienkulturen angewiesen und daher in beständigem Kontakt mit Wasser; auch ihre Entwicklung aus dem Zustande der Enzystierung ist an die Einwirkung von Wasser gebunden. Ein eventuell gefundener Lipidgehalt würde ihre Widerstandsfähigkeit gegen Wasser begreiflich machen.

Das zugrunde liegende Schema der Chromolyse entnahmen wir zuerst den Arbeiten über Granoplasma, Kernkörperchen und Epithelfaserung der Metazoen<sup>1)</sup>, d. h. wir notierten die Färbungsergebnisse nach verschieden langer Einwirkung der verschiedenen Salze, Säuren, Alkaloidreagentien und organischen Lösungsmittel. Diese Resultate waren zum Teil widersprechend und daher wenig befriedigend, besonders wenn es sich um einen Aufenthalt von 6—24 Stunden in den verschiedenen konzentrierten Lösungsmitteln handelte. Hierbei traten häufig Deformationen und Quellungen der Amöben mit unklaren, verschwommenen Färbungen auf, welche das Urteil über die erfolgte Lösung eines Bestandteiles sehr erschwerten.

Die nächste Folge war, daß wir unsere Lösungsversuche nur auf die mildesten Lösungsmittel beschränkten und die vollkommene Lösung einzelner Bestandteile durch Variierung der Zeiten und Temperaturen zu erreichen suchten.

Da zeigte sich nun, daß fast stets dieselben Wirkungen, welche ein langer Aufenthalt (12—36 Stunden) in diesen Lösungsmitteln hatte, auch durch eine hohe Temperatur, z. B. Siedetemperatur, ungemein rasch erreicht werden konnte. Diese Erkenntnis führte sofort zu einer bedeutenden Vereinfachung der chromolytischen Arbeit. Läßt man die verschiedenen Siedetemperaturen des Wassers, der Salzlösungen 2 volle Minuten, des Alkohols, Aethers und Acetons ungefähr 15 Minuten auf die Präparate einwirken, so sind in allen Fällen die Lösungsergebnisse nach unseren Versuchen konstant. Ihre Beschränkung auf eine bestimmte Temperatur und ein kurzes Zeitintervall begünstigt auch in

1) Unna, Zur Chemie der Zelle. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913 u. 1914.)

hohem Grade die Konstanz und Sicherheit der nachfolgenden Färbungen, mithin die Vergleichbarkeit der vorbehandelten und gefärbten Präparate.

Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß die kurze Einwirkung der Kochhitze an und für sich auf die vorher richtig fixierten Amöben durchaus keinen störenden Eingriff bedeutet; sie erscheinen danach in ihrer feineren Struktur unverändert. Jedenfalls ist sie viel schonender als die entsprechende längere Immersion in den verschiedenen Lösungsmitteln bei niederen Temperaturen.

Der Umstand, daß wir gerade bei den Amöben von der Kochhitze einen so vorteilhaften Gebrauch machen können, fällt natürlich ganz besonders ins Gewicht bei der Unterscheidung von genuinen Eiweißen einerseits und Albumosen andererseits. Während erstere in der Kochhitze sofort gerinnen, lösen sich letztere gerade bei dieser Temperatur unvergleichlich viel besser als bei niederen Temperaturen.

Zur ersten Orientierung beschränkten wir die Lösungsmittel, nachdem so die allgemeine Methodik der Chromolyse der Amöben festgelegt war, auf folgende 6: Wasser, 2-proz. Kochsalzlösung, konzentrierte Ammonsulfatlösung, absoluter Alkohol, Aether, Aceton und eine Mischung von Alkohol und Benzin.

Für bestimmte Zwecke mußten allerdings noch andere Lösungsmittel hinzugezogen werden. Da beispielsweise die allgemeine basische Eiweißgrundlage der Amöbe in den genannten Mitteln unlöslich ist, so mußte die verdauende Kraft von Trypsin benutzt werden, um überhaupt die Eiweißnatur dieser schwer löslichen Substanz festzustellen. Die meisten Hilfsmittel erfordert in dieser Beziehung der Außenkern, dessen besondere chemische Natur durch eine große Reihe von lösenden und nichtlösenden Substanzen endgültig festzustellen glückte.

### 1. Hämatoxylin.

#### a) Normalpräparat.

Die basische Eiweißsubstanz, die besonders stark durch Hämatein + Alaun gefärbt wird, liegt vorwiegend im Endoplasma der Amöbe. Hier erscheinen die Nahrungsvakuolen zum Teil hell mit besonders stark gefärbter Umrandung. Das Ektoplasma ist gleichmäßig homogen, hellbläulichgrau gefärbt und hebt sich, da, wo es sichtbar wird, gut vom dunkler bläulichgrauen Endoplasma ab. Um den Kern findet man häufig ein dunkler gefärbtes Plasma. Dieser Umstand ist auf eine Anhäufung der basischen Substanz des Endoplasmas zurückzuführen. Der Kern selbst ist gleichmäßig und etwas dunkler blau gefärbt als das Endoplasma.

Epikrise: Die Hämatoxylinfärbung gibt uns von der Amöbe ein höchst einfaches Bild. Wir sehen nur einen etwas dunkleren Kern in einem hellen Plasma, beide gleichmäßig homogen gefärbt. Es fehlt hier noch jede Andeutung einer Wabenstruktur im Endoplasma und einer Differenzierung im Kern. Die gute, wenn auch nicht starke Färbung mit Hämatein + Alaun beweist, daß in der Amöbe ein basisches Eiweiß in gleichmäßiger Verbreitung vorhanden ist. Eine Schaumstruktur zeigt bei dieser Färbung weder das Ektoplasma noch das Endoplasma.

#### b) Vorbehandlung mit destilliertem Wasser 2 Minuten bei 100°.

Hier fällt sofort die sehr schwache Plasmafärbung im Gegensatz zur ungewöhnlich starken Kernfärbung auf. Im Verhältnis zur schwachen

Färbung des Endoplasmas tritt das Ektoplasma deutlicher hervor, indem es etwas stärker grau und zugleich weniger bläulich gefärbt ist. Das Endoplasma hat stellenweise eine schwach wabenförmige Struktur angenommen, der Kern erscheint relativ groß, ist klar und gut gefärbt und konturiert.

**Epikrise:** Das kochende destillierte Wasser, welches keine genuinen Eiweiße, wohl aber Albumosen und albumosenähnliche basische Eiweiße auszuziehen vermag, greift am meisten das Endoplasma an. Dieses hat allein an Substanz verloren, während der Kern, ohne sich zu verkleinern, an Dichtigkeit, also an Masse, zugenommen hat, so daß die Bilder den Eindruck machen, als ob die aus dem Endoplasma herausgelösten basischen Eiweiße sofort vom Kern gespeichert worden wären. Das bei der Wasserbehandlung hervortretende Bild einer feinen Wabenstruktur lehrt, daß die herausgelösten Substanzen zum Teil innerhalb der Waben sitzen. Da dieselben an diesem Orte bei nicht extrahierten Amöben sich mit Hämatoxylin färbbar erweisen, so müssen dieselben basischer Natur sein. Das Ektoplasma zeigt Normalfärbung und keine Wabenstruktur. Es wird also durch kochendes Wasser den Waben des Ektoplasmas keine basische Substanz entzogen.

c) Vorbehandlung mit 2-proz. NaCl-Lösung 2 Minuten bei 100°.

Das Plasma ist äußerst schwach, der Kern etwas dunkler, hellgrau gefärbt. Ein Unterschied zwischen Ektoplasma und Endoplasma ist nicht mehr wahrzunehmen. Der Kern ist im Gegensatz zum Plasma recht gut, grau-blau gefärbt.

**Epikrise:** Im Gegensatz zur Wasserbehandlung, welche nur dem Endoplasma Stoffe entzieht, hat das Ektoplasma durch die Behandlung mit Kochsalzlösung ebensoviel an Substanz verloren wie das Endoplasma. Wie bei der Wasserbehandlung erscheint auch hier der Kern auffallend dunkel, also jedenfalls ohne Substanzverlust. Trotz des Substanzverlustes im Endoplasma tritt eine derartige Wabenstruktur wie bei der Vorbehandlung mit Wasser nicht mehr hervor. Mußten wir für diese annehmen, daß ein basischer Inhalt der Waben teilweise durch Wasser aufgelöst wurde, so kann das Verschwinden der Wabenstruktur in schwacher Kochsalzlösung nur darauf beruhen, daß außer dem basischen Wabeninhalt noch eine basische Substanz aus der Umgebung der Waben <sup>1)</sup> zugleich mit verloren gegangen ist, die bei der Vorbehandlung mit Wasser erhalten geblieben und mit Hämatein + Alaun gefärbt wurde. Denn das deutliche Hervortreten der Wabenstruktur ist in jedem Falle von zwei Bedingungen abhängig: erstens muß der Wabeninhalt bei einer bestimmten Färbung unfärbbar sein und sodann muß die Umgebung

1) Diese ungewohnte, vereinfachte Namengebung: Wabe und Wabenumgebung für die morphologischen Gegensätze innerhalb des Endoplasmas statt: flüssige und festere Phase der Schaumstruktur des Endoplasmas ergab sich als eine notwendige Folge der chromolytischen Analyse, da die löslichen Eiweiße den Wabeninhalt, die festeren alles Endoplasma außer dem Wabeninhalt, mithin die gesamte „Wabenumgebung“ charakterisieren. Außer diesem fundamentalen Gegensatz ließen sich mit den bisherigen Lösungs- und Färbungsmitteln noch keine weiteren konstanten Unterschiede erkennen. Die Hervorhebung des Begriffes: „Wabenumgebung“ als solchen liegt darin begründet, daß nur von einer färbbaren und tatsächlich gefärbten Umgebung die entleerten und daher absolut farblosen und unfärbbaren Waben sich deutlich abheben, womit allein die Anwesenheit eines löslichen Eiweißes nur in den Waben sicher erwiesen werden kann.



der Waben bei derselben Färbung gut hervortreten. Das Hervortreten einer Wabenstruktur bei einer bestimmten Färbung beweist also stets, daß Wabeninhalt und Wabenumgebung verschiedene färbbare Substanzen enthalten. In unserem Falle ist das in den Waben des Endoplasmas der Amöbe enthaltene basische Eiweiß wasserlöslicher als das basische Eiweiß der Umgebung der Waben.

d) Vorbehandlung mit gesättigter Ammonsulfatlösung  
2 Minuten bei 100°.

Das Endoplasma ist im ganzen stark, und zwar graublau gefärbt, hin und wieder sehr dunkel mit starkem Hervortreten der hellen Vakuolen und einer hellen Wabenstruktur. Je dunkler das Endoplasma der Amöben ist, um so breiter erscheint das dagegen sich hell absetzende Ektoplasma. Der Kern ist ungemein dunkel, nahezu schwarzblau gefärbt.

Epikrise: Die besonders dunkle Färbung des vakuolisierten Endoplasmas nach Behandlung mit Ammonsulfat spricht für das Fehlen einer Substanzentziehung aus dem Plasma, wie sie bei der Behandlung mit Wasser und Kochsalzlösung eintritt. Ein großer Teil der Waben ist durch die Salzlösung von ihrem Inhalt befreit, während das basische Eiweiß der Umgebung durch Ammonsulfat gefällt wurde und erhalten blieb. Eine gleich gute Erhaltung der Substanz finden wir beim Kern. Die heiße Salzlösung löst also einerseits den basischen Inhalt eines Teiles der Waben und führt andererseits zu einer Fällung und Schrumpfung der basischen Substanz des Endoplasmas, wodurch eine Freilegung des Ektoplasmas bewirkt wird.

e) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol 15 Minuten bei 55°.

Die Wirkung des Alkohols auf die basische Eiweißsubstanz ist der von destilliertem Wasser zu vergleichen. Auch hier bietet sich dasselbe Bild: stark dunkel-graublau gefärbter Kern und vollständig homogen hell-graublau gefärbtes Plasma. Ekto- und Endoplasma sind kaum voneinander zu unterscheiden. In letzterem finden sich nach innen zu hin und wieder noch stärker gefärbte Partien, in denen eine Wabenstruktur deutlich ist.

Epikrise: Absoluter Alkohol führt ebenso wie Wasser in bezug auf die basischen Bestandteile zu einer Substanzverminderung im Ekto- und Endoplasma, während der Kern seine Dichtigkeit und Färbbarkeit unvermindert behält. Ähnlich wie beim Ammonsulfat, aber in schwächerem Grade, erhält sich die basische Substanz in der Umgebung der Waben, während sie innerhalb der Waben verloren geht. Daher entsteht auch hier eine teilweise gute Darstellung der Wabenstruktur.

f) Vorbehandlung mit Aether 15 Minuten bei 35°.

Das Ektoplasma ist homogen, hell-graubläulich, das Endoplasma wabig, dunkel-graubläulich und der Kern homogen und noch etwas dunkler graublau gefärbt.

Epikrise: Die Färbung ist nach heißer Aetherbehandlung vom Normalen nicht sehr verschieden. Nur tritt die Wabenstruktur des Endoplasmas deutlicher als normal zutage, was sicher mit der Ausziehung von irgendwelchen Fettsubstanzen aus den Waben zusammenhängt.

g) Vorbehandlung mit Aceton 15 Minuten bei 56,3°.

Das Ektoplasma ist homogen hell-graubläulich, das Endoplasma stark wabig, hell-graubläulich und der Kern dunkel-graublau gefärbt.

**Epikrise:** Auch die Färbung nach heißer Acetonbehandlung unterscheidet sich, was Ektoplasma und Kern betrifft, kaum vom Normalen. Im Endoplasma dagegen begegnen wir hier der bei Hämatein + Alaun-Färbung besten Ausbildung der Wabenstruktur. Die Fettsubstanz in den Waben wird mithin durch Aceton besonders gründlich ausgezogen.

h) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol + Benzin zu gleichen Teilen 12 Stunden.

Der Kern ist dunkel-grauviolett, Ekto- und Endoplasma sind ganz gleichmäßig feinwabig, hell-violettbräunlich gefärbt. Die Wabenstruktur tritt weniger scharf hervor.

**Epikrise:** Die starke Färbung des Kernes nach der Alkohol + Benzin-Behandlung beweist, daß derselbe keine Lipide enthält. Die allerdings zarte Wabenstruktur des Ekto- und Endoplasmas zeigt, daß sämtliche Waben der Amöbe einen Lipoidgehalt besitzen. Die schwache Färbung der Wabenumgebung beweist, daß die nach der Extraktion übrigbleibende Globulinsubstanz gar nicht durch Hämatein gefärbt wird.

i) Gesamtepikrise der Hämatoxylinfärbung.

Die Hämatoxylinfärbung, die älteste und noch immer gebräuchlichste Methode der Amöbendarstellung, gibt von diesen Lebewesen ein einfaches, aber ziemlich einseitiges Bild. Sie bringt nämlich nur das basische Eiweiß derselben zur Darstellung und lehrt, daß solches in allen Teilen der Amöbe vorhanden ist. Am reichlichsten im Kern, weniger im Endoplasma und noch weniger im Ektoplasma. Durch die Kombination mit Lösungsmitteln erfahren wir weiter, daß es sich nicht um ein, sondern wenigstens um 3 verschiedene basische Eiweiße handelt, von denen nur eins, nämlich das unlösliche, die basische Grundsubstanz, in allen drei Teilen gleichmäßig vorhanden ist, während die beiden anderen sich auf das Endoplasma beschränken. Ein schon in Wasser vollkommen lösliches basisches Eiweiß (I) finden wir in den Waben des Endoplasmas. Durch die Auflösung desselben in einfachem Wasser wird daher bei Hämatoxylinfärbung bereits eine Wabenstruktur deutlich, da die Waben dann hell sind, während die Wabenumgebung noch ein zweites, in Wasser unlösliches, basisches Eiweiß (II), welches mit Hämatoxylin färbbar ist, enthält. Dieses zweite basische Eiweiß wird der Wabenumgebung erst durch 2-proz. Kochsalzlösung entzogen und damit verschwindet wieder der färberische Gegensatz von Wabeninhalt und Wabenumgebung, kurz die Wabenstruktur. Im Gegensatz zum Kochsalz wirken konzentrierte Ammonsulfatlösung, Alkohol, Aether, Aceton, Alkohol + Benzin, welche die Waben freimachen, nicht lösend auf dieses zweite basische Eiweiß der Wabenumgebung, wodurch nach der Behandlung mit diesen Mitteln die leeren Waben ebenfalls von der gefärbten Umgebung sich deutlich abheben.

Der Umstand, daß die organischen Lösungsmittel, besonders Aether und Aceton, kein Eiweiß lösen und daß trotzdem nach ihrer Einwirkung Hämatoxylin keinen Wabeninhalt mehr färbt und somit die Wabenstruktur deutlich hervortreten läßt, muß wohl darauf zurückgeführt werden, daß im Wabeninhalt das wasserlösliche basische Eiweiß (I) innig gemischt mit Lipiden vorkommt und bei Auflösung dieser Lipide durch Aether und Aceton auch das beigemischte basische Eiweiß mechanisch mit verloren geht. Nach Ausziehung der beiden löslichen basischen Eiweiße aus den Waben (I) und aus der Wabenumgebung (II) bleibt

noch das sehr viel schwerer lösliche basische Eiweiß (III), die Zellgrundlage der Amöbe, übrig, welche auch mit Hämatoxylin, wenn auch nur schwach, färbbar ist. Diese wird erst durch einen 24-stündigen Aufenthalt in 1-proz. Trypsinlösung bei Körpertemperatur vollständig aufgelöst.

## 2. Färbung mit polychromer Methylenblaulösung.

### a) Normalfärbung. (Fig. 1.)

Die Eiweißsubstanz, die durch polychrome Methylenblaulösung gefärbt wird, durchzieht in wabiger Form den größten Teil des Zellenleibes der Amöbe, nämlich das Endoplasma, während das Ektoplasma nur unter besonderen Umständen bei dieser Färbung einen wabigen Bau aufweist.

In dem Endoplasma finden sich, abgesehen von den kleinen, kreisförmigen, hellen Inhaltsräumen der Waben, noch größere Räume (Vakuolen), von denen nach reichlicher Nahrungsaufnahme die meisten einen zum Teil stark färbbaren Bakterieninhalt besitzen. Das Ektoplasma ist nur schwach homogen bläulich gefärbt. Rund um den Kern findet man regelmäßig eine dichtere und stärker färbbare Anhäufung von Substanz. Der innere Teil des Kerns (Innenkern), dunkelblau gefärbt, ist scharf von dem ringförmig ihn umgebenden, nicht oder ganz schwach gebläuten äußeren Teil desselben (Außenkern) zu unterscheiden.

Epikrise: Das basische Grundprotoplasma der Amöben, wie es uns das Hämatein zeigt, wird durch die polychrome Methylenblaulösung gar nicht angefärbt, tritt aber doch in seiner Ausdehnung stark gefärbt deshalb hervor, weil ihr saure Eiweißsubstanzen anhaften, welche sich mit basischen Farben stark färben. Diese befinden sich in der Wabenumgebung, erfüllen aber die Innenräume der Waben nur teilweise. So entsteht bei der Methylenblaufärbung, im Gegensatz zur Hämatoxylinfärbung, schon im normalen Präparat ein vielfach von leeren Waben durchbrochenes Bild: eine Wabenstruktur. Diese normale Wabenstruktur tritt am besten hervor, wenn die Amöben nicht vom Nahrungssaft allzu stark erfüllt sind, da auch dieser als saurer Eiweißkörper die blaue Färbung annimmt. Je reiner die Amöben von Verdauungsprodukten sind, um so besser tritt daher die normale Wabenstruktur des Endoplasmas hervor. Das Ektoplasma nimmt die Farbe weniger an und zeigt für gewöhnlich keine Wabenstruktur, sie tritt aber auch hier und zwar in sehr feiner Form auf nach Behandlung mit bestimmten Lösungsmitteln, z. B. Aceton. Der Kern, welcher bei Hämateinfärbung einheitlich gefärbt erscheint (basische Grundlage des Kerns), zerfällt bei der Methylenblaufärbung deutlich in 2 gut abgesetzte Anteile, den weitaus größeren dunkelblau gefärbten Innenkern und den nur sehr schwach färbbaren, nahezu farblosen Außenkern, welcher den Innenkern ring- oder schalenförmig umgibt. Hieraus geht hervor, daß mit der basischen Grundsubstanz des Kerns sich im Innenkern eine stark saure Substanz verbindet, von der im Außenkern nur Spuren vorhanden sind.

### b) Vorbehandlung mit destilliertem Wasser 2 Minuten bei 100°.

Hier tritt besonders schön die fein wabenförmige Anordnung des Protoplasmas im Endoplasma hervor, da die Waben wie ausgewaschen, klar und farblos geworden sind. Die Färbung der Wabenumgebung ist kräftig, der Innenkern noch deutlich dunkelblau gefärbt. Der Außen-

kern stellt einen hellen Ring dar. Das Ektoplasma ist unverändert erhalten, schwach bläulich gefärbt.

**Epikrise:** Entsprechend dem Verlust an sauren Verdauungsprodukten, den die Amöbe unter dem Einfluß der Auswaschung mit Wasser erleidet, tritt die normale Wabenstruktur besser hervor. Es zeigt sich hierbei, daß der Wabeninhalt im allgemeinen wasserlöslicher ist als das saure Eiweiß, soweit es die Wabenumgebung durchsetzt und die Wabenträume auskleidet. Ebenso ist das saure Eiweiß des Kerns wasserunlöslich. Diese beiden sauren, durch Methylenblau färbbaren Eiweißsubstanzen können also nicht mit dem eiweißartigen Inhalt der Waben, der in Wasser löslich ist, identisch sein. Der wasserlösliche Wabeninhalt hat die Eigenschaften einer Albumose, der wasserunlösliche Bestandteil der Wabenwände eine wesentliche Eigenschaft des Globulins.

c) Vorbehandlung mit 2-proz. Kochsalzlösung 2 Minuten bei 100°. (Fig. 2.)

Die Amöben findet man hier als hell-grünlichgraue Schatten, ohne jede feste Kontur. Ektoplasma und Endoplasma sind nicht mehr zu unterscheiden. Der Kern ist in derselben grünlichgrauen Farbe noch etwas angedeutet.

**Epikrise:** Die Tatsache, daß die Färbung mit Methylenblau, welche der Einwirkung heißen Wassers widersteht, nach Einwirkung einer 2-proz. Kochsalzlösung nicht mehr zustande kommt, sondern einem ganz verschwommenen Bilde Platz macht, ist für die Erkenntnis der verschiedenen Eiweiße der Amöben von größter Wichtigkeit. Sie zeigt mit aller Sicherheit, daß wir es hier in der Tat nicht mit einer wasserlöslichen Albumose, sondern mit einem wasserunlöslichen, in Salzlösung löslichen Globulin zu tun haben, welches also sicher die Hauptmasse des sauren Eiweißes im Endoplasma und Kern ausmacht. Globulin ist ein saures genuines Eiweiß, welches sich, da es der Einwirkung des Wassers widersteht, bei einem Lebewesen, das mit salzfreiem Wasser (Regenwasser) zeitweilig in Berührung kommt, gut zum Aufbau der Zelle eignet. Im Kern vertritt es das saure Nuklein der Metazoenzelle, von dem sich in dem Amöbenkern auf keine Weise mit den dazu geeigneten Methoden (Methylgrüngenischen) eine Spur nachweisen läßt.

d) Vorbehandlung mit gesättigter Ammonsulfatlösung 2 Minuten bei 100°.

Hier ist die Färbung kaum schwächer als normal. Die wabige, schaumförmige Anordnung des Protoplasmas tritt deutlich hervor. Ektoplasma ist gut erhalten, hellbläulich gefärbt. Der Innenkern ist etwas dunkler blau gefärbt, der Außenkern farblos.

**Epikrise:** Die konzentrierte Ammonsulfatlösung, welche im Gegensatz zur 2-proz. Kochsalzlösung Globulin fällen und nur die Albumosen und Verdauungsprodukte zu lösen vermag, hat das normale Methylenblaubild größtenteils erhalten, soweit sich saure Eiweißsubstanz (Globulin) in der wabigen Grundsubstanz befindet und die basische Grundlage des Kerns durchsetzt. Dagegen ist der Wabenbau deutlicher geworden. Die Ammonsulfatbehandlung bestätigt also sowohl das Vorhandensein von genuinem Eiweiß (Globuline) in den Wabenwänden wie von Albumosen als Wabeninhalt.

e) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol bei 55° 15 Minuten.

Die Färbung ist im allgemeinen normal, doch tritt die fein wabenförmige Struktur des Endoplasmas klarer hervor. Das Ektoplasma ist gut erhalten und erscheint hier zum ersten Male auch ganz fein wabenförmig. Der Innenkern ist noch gut gefärbt sichtbar und vom hellen Außenkern umgeben.

Epikrise: Die Behandlung mit absolutem Alkohol in der Wärme verdeutlicht ebenfalls die normale Wabenstruktur. Da Albumosen in absolutem Alkohol nicht löslich sind, wohl aber die weiter abgebauten Verdauungsprodukte, wie Pepton, und auch manche Lipide, wie z. B. Lecithin, so ist es möglich, daß die Verdeutlichung des Wabenbildes durch absoluten Alkohol auf dem Verlust derartiger saurer Eiweiße und Lipide beruht.

f) Vorbehandlung mit Aether 15 Minuten bei 35°.

Die Vorbehandlung mit Aether ändert am Methylenblaubild wenig. Der Kern und das Ektoplasma sind normal gefärbt. Im Endoplasma treten die Waben hervor, wenn auch nicht so gut wie nach Alkoholbehandlung.

Epikrise: Für die künftige Bewertung der Wabenstruktur des Ektoplasmas ist die Tatsache bemerkenswert, daß Aether den Wabeninhalt desselben nicht in dem Maße löst wie Alkohol, dieser also keinesfalls aus gewöhnlichen Fetten bestehen kann.

g) Vorbehandlung mit Aceton 15 Minuten bei 56,3° (Fig. 4.)

Das Plasma erscheint stark gefärbt; besonders ist das Endoplasma an dieser Färbung beteiligt, während das Ektoplasma in mehr oder minder großer Breite nahezu farblos ist. Dabei wird auch hier durch die Acetonvorbehandlung die Wabenstruktur ungemein deutlich, hauptsächlich im Endoplasma, aber auch im Ektoplasma, und zwar hier so gut wie durch keine anderen Ausziehungsmittel. Der Kern ist stark dunkelblau gefärbt.

Epikrise: Aceton wirkt ähnlich wie Alkohol und im Gegensatz zu Aether verdeutlichend auf das Wabenbild des Ektoplasmas ein. Die Auflösung des Wabeninhaltes im Endoplasma ist bei der Vorbehandlung mit Alkohol, Aether und Aceton übereinstimmend. Es scheint hiernach, daß diese organischen Lösungsmittel aus allen Waben Lipide herauslösen.

h) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol + Benzin zu gleichen Teilen 12 Stunden. (Fig. 3.)

Binnenkern dunkelblau homogen, Außenkern vollständig hell, Endoplasma sehr gut blau gefärbt, äußerst feinwabig; es macht den Eindruck, als ob die großen hellen Nahrungsvakuolen durch unmerkliche Uebergänge in die kleinen Waben übergehen. Auch im Ektoplasma treten zahlreiche Waben auf.

Epikrise: Der Kern enthält sicher keine Lipide, denn er ist stark dunkel diffus gefärbt. Das gleichmäßige Hervortreten der Waben im Endoplasma und Ektoplasma beweist, daß Alkohol + Benzin ein sehr gutes Lösungsmittel für den Fettgehalt aller Waben ist.

i) Gesamtepikrise der Färbung mit polychromer Methylenblaulösung.

Die Färbung mit polychromer Methylenblaulösung stellt den reinsten Gegensatz zur gebräuchlichen Hämatoxylinfärbung dar; gibt diese ledig-

lich nur über basische Eiweiße der Amöbe Aufschluß, so jene über die sauren.

Die polychrome Methylenblaulösung erzeugt in der Amöbenzelle keine Metachromasie. Wir wissen bestimmt: alles was sich damit blau färbt, ist sauer. Aber es braucht nicht gerade saures Eiweiß zu sein; auch ein saures Lipoid, wie z. B. Lecithin, nimmt das Methylenblau an und könnte irgendwo Ursache einer Blaufärbung sein.

Dem allgemeinsten Gesetz des tierischen Gewebes entsprechend, dient aber nur basisches Eiweiß als Grundlage auch des Amöbenkörpers, während saure Substanzen die Einlagerungen bilden. Daher haben wir die Methylenblaufärbung, welche diese letzteren kennen lehrt, trotz des von ihr aufgedeckten, genaueren Strukturbildes, erst an die zweite Stelle verweisen müssen. Sie bildet aber nicht bloß in chemischer Beziehung eine notwendige Ergänzung des Hämatoxylinbildes, sondern bereichert auch unsere Kenntnis vom histologischen Aufbau der Amöbe.

Im Endoplasma erfahren wir über die hier reichlich vorhandenen sauren Einlagerungen Aufschlüsse, die über dasjenige hinausgehen, was aus dem Hämatoxylinbilde zu erschließen war. Die saure Einlagerung in die basische Grundsubstanz erweist sich hier als ein fein verzweigtes blaues Netz, welches unzählige kleinste und gröbere Hohlräume mit seinen Maschen umspinnt und dem ganzen normalen Endoplasma bereits einen wabigen Charakter aufdrückt. Den Einschlüssen in Gestalt sauer reagierender Bakterien entsprechend, sind die Nahrungsvakuolen durch ihren Inhalt ebenfalls tief blau gefärbt und diese Färbung erstreckt sich in abnehmendem Grade noch auf die sauren Abbauprodukte der verdauten Bakterien und die von diesen infiltrierte nächste Umgebung der Nahrungsvakuolen. Man verfolgt gleichsam an der Hand der blauen Färbung, wie die basische Grundsubstanz der Amöbe von den angelockten und aufgenommenen sauren Bakterien netzförmig mit sauren Substanzen gespeist und durchzogen wird, bis diese, abgebaut, ihres sauren Charakters verlustig und daher unfärbbar werden.

Im Kerne bringt die polychrome Methylenblaulösung ebenfalls eine sehr wertvolle Differenzierung zu unserer Kenntnis, von der man im Hämatoxylinbilde nichts gewahrt. Während dort der Kern eine tinktorielle Einheit bildet, entsprechend der einheitlichen basischen Grundlage, erscheint er hier zweigeteilt und zerfällt in einen sauren, dunkelblau gefärbten Innenkern und einen ihn ringförmig umgebenden ungefärbten, rein basischen Außenkern. Der Gehalt des Kernes an saurer Substanz ist hier also genau beschränkt auf den Innenkern.

Die chromolytische Analyse zeigt weiter, daß wir als Ursache der Methylenblaufärbung des Endoplasmas zwei verschiedene saure Eiweißsubstanzen anzunehmen haben, eine wasserlösliche Albumose, welche die Waben erfüllt, und wasserunlösliches Globulin, welches im Wabengerüst verbreitet ist.

Indem heißes Wasser die Albumosen des Wabeninhaltes auflöst, bringt es bei nachfolgender Methylenblaufärbung die Wabenstruktur des Endoplasmas besonders schön zur Darstellung, dasselbe tut aber auch absoluter heißer Alkohol. Diese Tatsache ist entweder so zu erklären, daß die wabenerfüllende Substanz bis zu Peptonen abgebaut ist, oder daß der Alkohol Lipide auflöst, welche, mit Albumosen gemischt, die Waben erfüllen. Auch konzentrierte Ammonsulfatlösung hat auf das Methylenblaubild denselben Einfluß wie Wasser und Alkohol, sie reinigt die

Wabenstruktur durch Fortschaffen von Albumosen des Wabeninhaltes, erhält aber die Blaufärbung im Wabengerüst und im Kern.

Das nach Auswaschung mit Wasser, Alkohol oder konzentrierter Salzlösung im Endoplasma und Kern zurückbleibende, saure, Methylenblau aufnehmende Eiweiß ist aber völlig löslich in 2-proz. Kochsalzlösung und erweist sich damit als eine Globulinsubstanz, welcher somit der Hauptanteil an der Methylenblaufärbung der Amöbe zukommt.

Die wabenerfüllende Substanz im Ektoplasma hat sich dadurch als eine Lipoidsubstanz erwiesen, daß sie mehr oder weniger durch die organischen Lösungsmittel, besonders vollständig aber durch Aceton und durch eine Mischung von Alkohol + Benzin aufgelöst wird.

Diese letzteren Lösungsmittel bringen bei Färbung mit polychromer Methylenblaulösung die Wabenstruktur im Ektoplasma deswegen am besten zur Darstellung, weil durch sie wohl der Wabeninhalt vollständig gelöst, die Wabenumgebung aber noch bläulich gefärbt erhalten ist. Dieser letztere Umstand spricht für das Vorhandensein einer nichtlipoidartigen, sauren Einlagerung im Ektoplasma, die nicht in Wasser, wohl aber in Kochsalz löslich und daher wohl mit dem Globulin des Endoplasmas identisch ist.

Hiernach besteht zwischen den Resultaten der Hämatoxylin- und Methylenblaufärbung kein Widerspruch, sie ergänzen sich vielmehr in befriedigender Weise.

Beide Färbungen zusammengefaßt ergeben folgende Substanzen als Bestandteile des Amöbenleibes:

**Im Wabeninhalt:**

- 1) Wasserlösliches basisches Eiweiß (durch Hämatoxylin nachweisbar)
- 2) Wasserlösliches saures Eiweiß (durch polychrome Methylenblaulösung nachweisbar)
- 3) Lipoide.

**In der Wabenumgebung:**

- 1) Kochsalzlösliches basisches Eiweiß (durch Hämatoxylin nachweisbar)
- 2) Kochsalzlösliches saures Eiweiß (durch polychrome Methylenblaulösung nachweisbar)
- 3) Trypsinlösliches basisches Eiweiß (durch Hämatoxylin nachweisbar)
- 4) Lipoide.

**Im Innern:**

- 1) Trypsinlösliches basisches Eiweiß (durch Hämatoxylin nachweisbar)
- 2) Kochsalzlösliches saures Eiweiß (durch polychrome Methylenblaulösung nachweisbar).

**Im Außenkern:**

- Trypsinlösliches basisches Eiweiß (durch Hämatoxylin nachweisbar).

### 3. Färbung nach Giemsa.

#### a) Kontrollpräparat. (Fig. 5.)

Das Plasma ist verschieden gefärbt bei den einzelnen Individuen. Es ist ein blauer Grundton, der ins Grauviolette, Graublaue und Rötlichviolette hineinspielt. Die rötliche Nuance hängt wohl von mikroskopisch sich rot färbenden Bazillen ab, deren Verdauungsprodukte sich dem Saft der Amöbe zumischen; denn sie wechselt entschieden mit dem Bazillengehalt und fehlt sehr häufig ganz bazillenlosen Amöben. Auch spricht dafür, daß diese rötliche Nuance dort, wo Endo- und Ektoplasma scharf getrennt sind, nur im Endoplasma sich findet, während das Ektoplasma rein blau gefärbt ist. Der Außenkern tritt bei Giemsa-Färbung, und nur bei dieser, als ein prachtvoll dunkelrot gefärbter Ring auf, welcher den blauen Binnenkern allseitig umgibt. In einigen Fällen



erleidet er lückenförmige Unterbrechungen. So bei der Teilung und beim Zerfall in Chromosomen<sup>1)</sup>. Diese Lücken treten in Form von mehreren aufeinander folgenden ungefärbten Stellen innerhalb des roten Ringes auf. Die Ringform, die abgesehen vom Stadium der Teilung bei jeder Amöbe wiederkehrt und niemals dem Bilde eines größeren Kugelabschnittes oder einer vollständigen Kugel Platz macht, läßt sich nur erklären unter Annahme zweier Umstände: 1) daß diese rote Substanz wirklich in Ringform um den Innenkern ausgebreitet ist, und 2) daß der Kern keine Kugelform besitzt, sondern die Form einer kreisförmigen Platte, welche dem Beschauer stets dieselbe Polansicht (innen Binnenkern, außen Außerkern) zukehrt; würden wir den roten Ring einmal von der Seite her zu Gesicht bekommen, so müßte der blaue Binnenkern von einem roten Bande zentral verdeckt erscheinen, während seitlich davon blaue Sektoren hervorragen würden. Dieses Bild<sup>2)</sup> erscheint nur bei der Teilung. Es ist daher so gut wie sicher, daß der Kern eine abgeplattete Gestalt besitzt und im Präparat immer auf der Fläche, nie auf der Kante ruht. Uebrigens gewinnt man diese Anschauung auch an ungefärbten und manchen gefärbten Präparaten, wenn man versucht, den Pol der vorausgesetzten Kernkugel mit der Mikrometerschraube einzustellen. Es tritt statt seiner immer gleich die ganze flache Kernscheibe in den Focus.

Epikrise: Das saure Eiweiß des Binnenkerns speichert bei der Giemsa-Färbung nur das Azur, während das Rot der Giemsa-Färbung vollkommen rein am Außerkern haftet. Obwohl die Natur dieses roten Farbstoffes durchaus noch nicht endgültig geklärt ist, geht allein schon aus der Tatsache, daß der Außerkern sonst nie eine basische Farbe annimmt, hervor, daß auch das Rot der Giemsa-Färbung eine saure Farbe sein muß.

Es ist weiter klar, daß es sich bei diesem basischen Eiweiß des Außerkernes, welches ganz allein das Rot aus Giemsa aufnimmt, um ein solches handeln muß, welches von der basischen Eiweißgrundlage des Innenkernes und des Plasmas durchaus verschieden ist. Nur ein ganz besonderes, basisches Eiweiß ist imstande, eine so spezifische saure Farbe wie das Rot aus der Giemsa-Färbung zu speichern.

Die Färbung mit polychromer Methylenblaulösung brachte bereits den Beweis einer Zweiteilung des Kernes in chemischer Beziehung, da der Außerkern diese basische Färbung nicht annimmt, während sie den Innenkern stark färbt. Hieraus war zu schließen, daß der Innenkern allein ein saures Eiweiß besitzt, welches dem Außerkern abgeht. Die Hämateinfärbung des Kernes zeigte andererseits, daß sowohl Innenkern wie Außerkern ein basisches Eiweiß enthält. Das Resultat dieser beiden Färbungen zusammengekommen besagt also, daß Außen- und Innenkern eine einheitliche basische Eiweißgrundlage besitzen, während die saure Eiweißkomponente nur den Innenkern auszeichnet. Beide Färbungen ließen aber die Frage noch vollständig offen, ob im Außerkern außer der basischen Eiweißgrundlage überhaupt noch eine andere Eiweißsubstanz vorhanden sei.

Hier trat nun die Giemsa-Färbung ergänzend ein, indem es v. Wasielowski glückte, mit dieser dem Außerkern eine rote Kontrastfarbe zu verleihen und dadurch Außen- und Innenkern konträr zu färben.

1) Nach v. Wasielowski macht sich bei stärkster Vergrößerung überhaupt eine Zusammensetzung des Ringes aus getrennten Gliedern bemerkbar.

2) Gleichsam ein Bild des Saturnringes, von der Seite gesehen.

b) Vorbehandlung mit destilliertem Wasser 2 Minuten bei 100°. (Fig. 6.)

Plasma und Innenkern sind noch gut erhalten, aber abgeschwächt blau gefärbt. Der Außenkern, der bei der Giemsa-Färbung allein rot gefärbt wird, erscheint als farbloser heller Ring, der Träger der roten Farbe ist also vollständig gelöst. Den bei dieser Extraktion rotvioletten Ton, den einzelne Amöben im Innenkern und stellenweise im Plasma aufweisen, könnte man so erklären, daß die gelöste rotliebende Substanz des Außenkernes zum Teil in den Innenkern und das Plasma vorübergehend hineindiffundiert ist, denn bei längerem Verweilen (4—5 Minuten) in kochendem destilliertem Wasser verlieren alle Amöben ohne Ausnahme diese rote Komponente im Innenkern und Plasma vollständig.

Epikrise: Hiermit ist der Nachweis erbracht, daß die „rotliebende“ basische Eiweißsubstanz, welche einen großen Teil der Masse des Außenkernes bildet, in destilliertem Wasser leicht löslich ist. Sie hat also hierin eine Ähnlichkeit mit dem Kosselschen Histon. Lehrte der entsprechende Versuch mit polychromer Methylenblaufärbung, daß destilliertes Wasser einen Teil der sauren Bestandteile aus dem Innenkern und Endoplasma auflöst (Albumosen), so erfahren wir aus diesem Versuche, daß im Außenkern ein durch Wasser ausziehbares, aber basisches Eiweiß enthalten ist.

c) Vorbehandlung mit 2-proz. Kochsalzlösung 2 Minuten bei 100°.

Das ganze Präparat zeigt die Amöben durch das Lösungsmittel stark mitgenommen. Die Struktur ist kaum noch zu erkennen. Sehr schwach graugrünlich gefärbt, hebt sich der Innenkern um ein wenig stärker von dem ebenso gefärbten, vollständig homogenen Endoplasma ab. Der dazwischen liegende Außenkern ist vollständig ausgewaschen und ganz farblos.

Epikrise: Wie bei der Färbung mit polychromer Methylenblaulösung zeigt auch die Giemsa-Färbung einen Unterschied der Vorbehandlung mit Wasser und mit Kochsalzlösung derart, daß letztere mehr saures Eiweiß (Albumosen + Globulin) auszieht als ersteres (nur Albumosen). Dieser Schluß gilt aber natürlich nur für den Innenkern und das Plasma, nicht für den Außenkern, da wir ja schon wissen, daß es sich bei ihm überhaupt nicht um einen Gehalt an saurem Eiweiß handeln kann.

d) Vorbehandlung mit gesättigter Ammonsulfatlösung 2 Minuten bei 100°.

Das Giemsa-Präparat bietet ein ähnliches Bild wie die Färbung mit polychromer Methylenblaulösung. Das Endoplasma erscheint stark wabenförmig, ist aber durch das Azur etwas diffuser blau gefärbt. Bei einzelnen Amöben findet man zentral gelegen stärker gefärbte Partien des Endoplasmas, bei denen die Wabenstruktur undeutlich ist. Das Ektoplasma ist vollständig hell-graublau gefärbt, der Innenkern stark dunkelblau, der Außenkern vollständig farblos und nur als heller Ring noch wahrnehmbar.

Epikrise: In chemischer Beziehung gibt dieses Bild wiederum eine Parallele zu der Ammonsulfatbehandlung bei nachfolgender Färbung mit polychromer Methylenblaulösung. Auch hier ist das normale Bild größtenteils gut erhalten, indem die konzentrierte Ammonsulfatlösung alles Globulin gefällt und fixiert hat, welches dann das Azur der Giemsa-Färbung auch in normaler Weise speichert. Auch hier tritt die Waben-

struktur im Endoplasma etwas stärker hervor durch Lösung von Albumosen des Wabeninhaltes. Daß das Rot des Außenkernes auch hier vollständig in Wegfall kommt, beweist, daß der Träger desselben in konzentrierter Ammonsulfatlösung ebenso löslich ist wie in destilliertem Wasser und 2-proz. Kochsalzlösung. Andererseits beweisen diese 3 Versuche, daß im Außenkern außer der rotliebenden Substanz noch eine unlösliche Grundsubstanz vorhanden ist, denn nach der Lösung ersterer entstehen keine Lücken im Amöbenleibe an Stelle des Außenkernes. Diese Grundsubstanz ist, wie die Hämateinfärbung gelehrt hat, ebenfalls basischer Natur. Hiernach weist der Außenkern zwei grundverschiedene, basische Eiweiße auf, ein (rotliebendes) wasserlösliches und ein in Wasser unlösliches, welches sich mit Hämatoxylin färben läßt.

e) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol 15 Minuten bei 55°.

Das Plasma ist schwächer gefärbt als normal, vor allem das Endoplasma, während das Ektoplasma etwas mehr bläuliche Farbe hält. Im Endoplasma tritt die Wabenstruktur deutlich hervor, da der Inhalt der Waben mehr oder weniger leer und hell ist. Im Kern sind deutlich roter Außenkern und blauer Innenkern zu unterscheiden, aber beide in der Färbung abgeschwächt; sehr wenig da, wo die Amöben zusammenliegen, während bei einzeln liegenden Amöben die Außenkernmasse oft ein ziemlich verwaschenes Rot darbietet.

Epikrise: In diesem Präparat, vollkommen entsprechend dem Methylenblaupräparat, ist die Wabenstruktur dadurch deutlicher geworden, daß der Wabeninhalt vom absoluten Alkohol in der Wärme fortgeschafft ist. Die Abschwächung der gesamten Färbung ist hier wohl, wie bei der polychromen Methylenblaufärbung, entweder auf extrahierte alkohollösliche Albumosen, Peptone oder Lipide zurückzuführen. Von letzteren kommt hauptsächlich Lecithin in Betracht, welches sich gut mit Azur färbt. Die Abschwächung der Färbung des Außenkernes, die teilweise bis zur vollständigen Lösung geht, beweist die Löslichkeit des histonähnlichen basischen Eiweißkörpers auch in Alkohol.

f) Vorbehandlung mit Aether 15 Minuten bei 35°.

Das Präparat zeigt keine wesentlichen Veränderungen. Das Protoplasma ist gut erhalten, Kern und Außenkern, wie die gute Färbung zeigt, ebenfalls nicht angegriffen.

Epikrise: Das Giemsa-Bild der mit Aether behandelten Amöben ist insofern übereinstimmend mit dem der polychromen Methylenblaufärbung, als alle Bestandteile und insbesondere der Außenkern normal, nur etwas schwächer gefärbt sind.

g) Vorbehandlung mit Aceton 15 Minuten bei 56,3°.

Das Plasma erscheint bis an die äußerste Peripherie blaugrau gefärbt. Der Außenkern ist sehr abgeblaßt, teilweise noch schwach rosa, teilweise ganz entfärbt. Der Innenkern ist normal graublau.

Epikrise: Die teilweise Löslichkeit des Außenkernes in Aceton im Gegensatz zur Nichtlöslichkeit in Aether könnte möglicherweise darauf beruhen, daß Aceton immer sauer reagiert.

h) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol + Benzin zu gleichen Teilen 12 Stunden.

Binnenkern dunkelviolet, Außenkern dunkelrot. Endoplasma hellblau, zum Teil wabig, zum Teil mehr diffus gefärbt. Das Ektoplasma ist hell.

**Epikrise:** Die Giemsa-Färbung zeigt durch die tiefe Färbung des Kerns, daß derselbe keinen Substanzverlust erlitten hat und mithin keine in Alkohol + Benzin lösliche Lipide besitzt. Nur das Endoplasma nimmt, von Lipiden befreit, eine etwas schwächere Azurfarbe an, erscheint aber nicht so wabig durchlöchert wie bei der Färbung mit polychromer Methylenblaulösung. Hieraus geht hervor, daß die Giemsa-Färbung im Gegensatz zur polychromen Methylenblaulösung noch einen eiweißartigen Wabeninhalt färbt, den letztere nicht anfärbt.

i) **Gesamtepiikrise der Giemsa-Färbung.**

Die Schlußfolgerungen aus der Anwendung der Chromolyse auf die basische Giemsa-Färbung stimmen, soweit sie das Plasma betreffen, mit der Epikrise der basischen Methylenblaufärbung überein. Infolgedessen berücksichtigen wir bei der Giemsa-Färbung nur die hier zum ersten Male auftretende, äußerst charakteristische, man kann wohl sagen spezifische Doppelfärbung des Kerns. Zumal die Rotfärbung des Außenkerns erfordert hier eine ausführliche Erörterung und erlaubt eine sehr ausgedehnte Anwendung der chromolytischen Methode.

Die Natur des von Wasielewski und Hirschfeld studierten Außenkerns wird durch die Giemsa-Färbung im Vergleiche mit den beiden anderen Färbungen sehr genau bestimmt. Wesentlich ist zunächst seine Nichtfärbung durch die basische polychrome Methylenblaufärbung und seine Nichtaufnahme des basischen Azurs aus der Giemsa-Lösung. Diese Tatsachen beweisen, daß im Außenkern kein saures Eiweiß vorliegt. Mit dieser negativen Erfahrung stimmt die positive überein, daß der Außenkern bei der Hämateinfärbung nie, wie bei der polychromen Methylenblaufärbung, als farbloser Ring erscheint; er färbt sich vielmehr gemeinsam und gleichfarbig mit dem Innenkern, wird demnach wie dieser eine basische Eiweißgrundlage besitzen und wahrscheinlich dieselbe.

Andererseits zeigt uns die Giemsa-Färbung in auffälliger und überzeugender Weise, daß im rot sich färbenden Außenkerne noch eine besondere Substanz vorhanden sein muß, welche im Innenkerne fehlt. Vorausgesetzt, daß in dieser auch eine Eiweißsubstanz vorliegt, so muß es ebenfalls eine basische sein, da ja die polychrome Methylenblaulösung sie nicht zu färben vermag. Es kommt bei der sich rot färbenden Substanz auch sicher kein Lipoid in Betracht, da heißer Aether, Alkohol + Benzin usf. die Färbung nicht aufhebt. Handelt es sich dabei also um ein basisches Eiweiß, so haben wir im Außenkern zwei basische Eiweiße anzuerkennen, eines, das sich bläulich mit Hämatein + Alaun und eines, welches sich spezifisch rot mit der Giemsa-Färbung färbt.

Eine Anzahl basischer Eiweiße sind durch die Untersuchungen von Kossel und seinen Schülern bereits gut bekannt, es sind die Histone und Protamine. Sie bilden zusammen mit Nukleinsäure einen Hauptbestandteil der Kerne der Metazoen.

Was nun den Außenkern der Amöbe betrifft, so sind von diesen beiden Gruppen die Histone von vornherein auszuschließen, da der Außenkern durch kochende Salzlösung (2-proz. und konzentrierte Lösung) gelöst, durch Alkaloidreagentien bei alkalischer Reaktion dagegen nicht gelöst wird. Der letztere Umstand, das Erhaltenbleiben in Alkaloidreagentien auch bei alkalischer Reaktion stimmt aber sehr gut überein mit den Eigenschaften der Protamine. Auch alle sonstigen Eigenschaften des Außenkerns sprechen für seinen Gehalt an einem Protamin.

Zunächst die Leichtlöslichkeit in Wasser; in kochendem Wasser

6\*

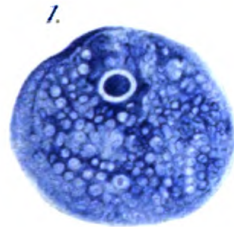
verschwindet die Substanz, welche sich nach Giemsa rot färbt, fast momentan. Durch diese Eigenschaft sind auch alle genuinen Eiweiße völlig ausgeschlossen. Die ebenso große Löslichkeit in konzentrierten wie in schwachen Salzlösungen macht insbesondere auch die Annahme von Globulinen unmöglich. Die schon erwähnte Erhaltung des Außenkerns in Alkohol und Aether, sogar beim Kochen mit denselben, schließt andererseits alle Lipoide aus, verträgt sich dagegen sehr gut mit der Anwesenheit von Protaminen, die in Alkohol und Aether unlöslich sind. Einen sehr schlagenden Beweis ferner, daß die sich rot färbende Substanz des Außenkerns mit Protamin zu identifizieren sein wird, liefert die Verdauung. Bei der stundenlangen Verdauung mit Pepsin (ohne HCl) bei 30° (Fig. 8) erhält sich der Außenkern, während derselbe durch Pankreatin und Trypsin seine Färbbarkeit mit dem Rot aus Giemsa rasch verliert. Die Pepsinverdauung läßt sich sogar als präparatorisches Verfahren empfehlen, um die Rotfärbung des Außenkerns bei Giemsa-Färbung besonders intensiv zu gestalten. Während der ganze Leib der Amöbe sich dann mit Azur nur noch schwach bläulich färbt, heben sich nun die roten Außenkerne besonders kräftig ab. Die feinere Struktur des Außenkerns wird allerdings dabei weniger deutlich; andererseits nehmen eine Reihe von anderen niederen Organismen (Bakterien, Pilzsporen), die sich in den Amöbenkulturen befinden, an der relativen Verstärkung der Rotfärbung durch vorherige Pepsinverdauung teil.

Ebenso beweisend für die Protamin-Natur des bei Giemsa-Färbung roten Außenkerns, wie die bemerkenswerte Fällung durch Pepsin, ist die Resistenz desselben gegen die starken Alkalien: Natron- und Kalilauge, Ammoniak und Barythydrat (Fig. 7). Auch diese Versuche wurden in der Weise angestellt, daß die (mittels Osmiumsäure) fixierten Amöben zunächst mit den Alkalilösungen begossen, kurz abgespült und dann 2 Minuten lang in kochendes Wasser gebracht wurden. Während die letztere Prozedur allein ausnahmslos die sich rot färbende Substanz aus den Außenkernen entfernt, welche dann bei Giemsa-Färbung farblos bleiben, tritt die Rotfärbung sehr deutlich auf, wenn vorher die Behandlung mit Alkalien eingeschoben wurde. Beim Ammoniak genügt dazu das einfache kurze Uebergießen mit der offizinellen Ammoniaklösung, beim Barytwasser eine 2 Minuten lange Einwirkung. Mit 2-proz. Natron- und Kalilauge kann man die Präparate 5 Minuten lang behandeln und findet nach der Giemsa-Färbung wohl die Amöben im Ganzen stark angegriffen und teilweise aufgelöst, aber den Außenkern gut erhalten. Ja, man kann dieses anscheinend übermächtige Lösungsmittel in 40-proz. Lösung auf die Amöben wirken lassen und wird mit der Giemsa-Färbung gerade nur noch den Außenkern wohl erhalten finden.

An diese Alkalien schließt sich die große Gruppe der alkalischen oder alkalisch gemachten Alkaloidreagentien an. Auch hier bestätigte sich durchweg dieselbe Wahrnehmung, daß eine vorherige Behandlung mit denselben die Löslichkeit des Außenkerns in kochendem Wasser aufhebt. Wir haben in dieser Beziehung folgende Alkaloidreagentien untersucht: phosphormolybdänsaures Ammoniak, phosphorwolframsaures Ammoniak, Ferrocyankalium, Ferricyankalium, Jodjodkalium, Jodquecksilberjodkalium und pikrinsaures Ammoniak. Da eine zu lange Einwirkung dieser alkalischen Mittel der Erhaltung der Amöben nicht günstig ist, so muß die Zeitdauer der Einwirkung nach der Natur der verschiedenen Substanzen geregelt werden. Wir fanden, daß zur Fällung der rotliebenden Substanz bei einer mittels Ammoniaks neutralisierten, gesättigten

### *Zur Chemie der Amöben.*

*Nachweis von Globulin.  
Polychrome Methylenblaulösung*

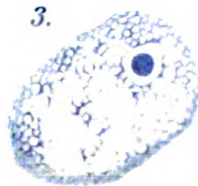


*Normal.*

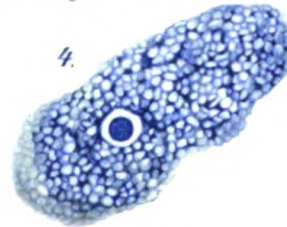
2.

*2% Kochsalz*

*Nachweis von Lipoiden.  
Polychrome Methylenblaulösung*



*Alkohol-Benzin*

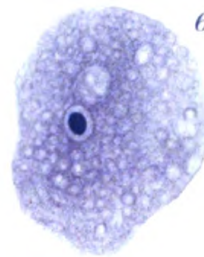


*Aceton*

*Nachweis von Protamin.  
Giemsa-Lösung*



*Normal*



*Destill. Wasser*

7.



*Ammoniak*

8.



*Pepsin*

struktur im Endoplasma etwas stärker hervor durch Lösung von Albumosen des Wabeninhaltes. Daß das Rot des Außenkernes auch hier vollständig in Wegfall kommt, beweist, daß der Träger desselben in konzentrierter Ammonsulfatlösung ebenso löslich ist wie in destilliertem Wasser und 2-proz. Kochsalzlösung. Andererseits beweisen diese 3 Versuche, daß im Außenkern außer der rotliebenden Substanz noch eine unlösliche Grundsubstanz vorhanden ist, denn nach der Lösung ersterer entstehen keine Lücken im Amöbenleibe an Stelle des Außenkernes. Diese Grundsubstanz ist, wie die Hämateinfärbung gelehrt hat, ebenfalls basischer Natur. Hiernach weist der Außenkern zwei grundverschiedene, basische Eiweiße auf, ein (rotliebendes) wasserlösliches und ein in Wasser unlösliches, welches sich mit Hämatoxylin färben läßt.

**e) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol 15 Minuten bei 55°.**

Das Plasma ist schwächer gefärbt als normal, vor allem das Endoplasma, während das Ektoplasma etwas mehr bläuliche Farbe hält. Im Endoplasma tritt die Wabenstruktur deutlich hervor, da der Inhalt der Waben mehr oder weniger leer und hell ist. Im Kern sind deutlich roter Außenkern und blauer Innenkern zu unterscheiden, aber beide in der Färbung abgeschwächt; sehr wenig da, wo die Amöben zusammenliegen, während bei einzeln liegenden Amöben die Außenkernmasse oft ein ziemlich verwaschenes Rot darbietet.

**Epikrise:** In diesem Präparat, vollkommen entsprechend dem Methylenblaupräparat, ist die Wabenstruktur dadurch deutlicher geworden, daß der Wabeninhalt vom absoluten Alkohol in der Wärme fortgeschafft ist. Die Abschwächung der gesamten Färbung ist hier wohl, wie bei der polychromen Methylenblaufärbung, entweder auf extrahierte alkohollösliche Albumosen, Peptone oder Lipide zurückzuführen. Von letzteren kommt hauptsächlich Lecithin in Betracht, welches sich gut mit Azur färbt. Die Abschwächung der Färbung des Außenkernes, die teilweise bis zur vollständigen Lösung geht, beweist die Löslichkeit des histonähnlichen basischen Eiweißkörpers auch in Alkohol.

**f) Vorbehandlung mit Aether 15 Minuten bei 35°.**

Das Präparat zeigt keine wesentlichen Veränderungen. Das Protoplasma ist gut erhalten. Kern und Außenkern, wie die gute Färbung zeigt, ebenfalls nicht angegriffen.

**Epikrise:** Das Giemsa-Bild der mit Aether behandelten Amöben ist insofern übereinstimmend mit dem der polychromen Methylenblaufärbung, als alle Bestandteile und insbesondere der Außenkern normal, nur etwas schwächer gefärbt sind.

**g) Vorbehandlung mit Aceton 15 Minuten bei 56,3°.**

Das Plasma erscheint bis an die äußerste Peripherie blaugrau gefärbt. Der Außenkern ist sehr abgeblaßt, teilweise noch schwach rosa, teilweise ganz entfärbt. Der Innenkern ist normal graublau.

**Epikrise:** Die teilweise Löslichkeit des Außenkernes in Aceton im Gegensatz zur Nichtlöslichkeit in Aether könnte möglicherweise darauf beruhen, daß Aceton immer sauer reagiert.

**h) Vorbehandlung mit absolutem Alkohol + Benzin zu gleichen Teilen 12 Stunden.**

Binnenkern dunkelviolet, Außenkern dunkelrot. Endoplasma hellblau, zum Teil wabig, zum Teil mehr diffus gefärbt. Das Ektoplasma ist hell.



**Epikrise:** Die Giemsa-Färbung zeigt durch die tiefe Färbung des Kerns, daß derselbe keinen Substanzverlust erlitten hat und mithin keine in Alkohol + Benzin lösliche Lipide besitzt. Nur das Endoplasma nimmt, von Lipiden befreit, eine etwas schwächere Azurfarbe an, erscheint aber nicht so wabig durchlöchert wie bei der Färbung mit polychromer Methylenblaulösung. Hieraus geht hervor, daß die Giemsa-Färbung im Gegensatz zur polychromen Methylenblaulösung noch einen eiweißartigen Wabeninhalt färbt, den letztere nicht anfärbt.

#### i) Gesamtepikrise der Giemsa-Färbung.

Die Schlußfolgerungen aus der Anwendung der Chromolyse auf die basische Giemsa-Färbung stimmen, soweit sie das Plasma betreffen, mit der Epikrise der basischen Methylenblaufärbung überein. Infolgedessen berücksichtigen wir bei der Giemsa-Färbung nur die hier zum ersten Male auftretende, äußerst charakteristische, man kann wohl sagen spezifische Doppelfärbung des Kerns. Zumal die Rotfärbung des Außenkerns erfordert hier eine ausführliche Erörterung und erlaubt eine sehr ausgedehnte Anwendung der chromolytischen Methode.

Die Natur des von Wasielewski und Hirschfeld studierten Außenkerns wird durch die Giemsa-Färbung im Vergleiche mit den beiden anderen Färbungen sehr genau bestimmt. Wesentlich ist zunächst seine Nichtfärbung durch die basische polychrome Methylenblaufärbung und seine Nichtaufnahme des basischen Azurs aus der Giemsa-Lösung. Diese Tatsachen beweisen, daß im Außenkern kein saures Eiweiß vorliegt. Mit dieser negativen Erfahrung stimmt die positive überein, daß der Außenkern bei der Hämateinfärbung nie, wie bei der polychromen Methylenblaufärbung, als farbloser Ring erscheint; er färbt sich vielmehr gemeinsam und gleichfarbig mit dem Innenkern, wird demnach wie dieser eine basische Eiweißgrundlage besitzen und wahrscheinlich dieselbe.

Andererseits zeigt uns die Giemsa-Färbung in auffälliger und überzeugender Weise, daß im rot sich färbenden Außenkerne noch eine besondere Substanz vorhanden sein muß, welche im Innenkerne fehlt. Vorausgesetzt, daß in dieser auch eine Eiweißsubstanz vorliegt, so muß es ebenfalls eine basische sein, da ja die polychrome Methylenblaulösung sie nicht zu färben vermag. Es kommt bei der sich rot färbenden Substanz auch sicher kein Lipoid in Betracht, da heißer Aether, Alkohol + Benzin usf. die Färbung nicht aufhebt. Handelt es sich dabei also um ein basisches Eiweiß, so haben wir im Außenkern zwei basische Eiweiße anzuerkennen, eines, das sich bläulich mit Hämatein + Alaun und eines, welches sich spezifisch rot mit der Giemsa-Färbung färbt.

Eine Anzahl basischer Eiweiße sind durch die Untersuchungen von Kossel und seinen Schülern bereits gut bekannt, es sind die Histone und Protamine. Sie bilden zusammen mit Nukleinsäure einen Hauptbestandteil der Kerne der Metazoen.

Was nun den Außenkern der Amöbe betrifft, so sind von diesen beiden Gruppen die Histone von vornherein auszuschließen, da der Außenkern durch kochende Salzlösung (2-proz. und konzentrierte Lösung) gelöst, durch Alkaloidreagentien bei alkalischer Reaktion dagegen nicht gelöst wird. Der letztere Umstand, das Erhaltenbleiben in Alkaloidreagentien auch bei alkalischer Reaktion stimmt aber sehr gut überein mit den Eigenschaften der Protamine. Auch alle sonstigen Eigenschaften des Außenkerns sprechen für seinen Gehalt an einem Protamin.

Zunächst die Leichtlöslichkeit in Wasser; in kochendem Wasser

verschwindet die Substanz, welche sich nach Giemsa rot färbt, fast momentan. Durch diese Eigenschaft sind auch alle genuinen Eiweiße völlig ausgeschlossen. Die ebenso große Löslichkeit in konzentrierten wie in schwachen Salzlösungen macht insbesondere auch die Annahme von Globulinen unmöglich. Die schon erwähnte Erhaltung des Außenkerns in Alkohol und Aether, sogar beim Kochen mit denselben, schließt andererseits alle Lipoide aus, verträgt sich dagegen sehr gut mit der Anwesenheit von Protaminen, die in Alkohol und Aether unlöslich sind. Einen sehr schlagenden Beweis ferner, daß die sich rot färbende Substanz des Außenkerns mit Protamin zu identifizieren sein wird, liefert die Verdauung. Bei der stundenlangen Verdauung mit Pepsin (ohne HCl) bei 30° (Fig. 8) erhält sich der Außenkern, während derselbe durch Pankreatin und Trypsin seine Färbbarkeit mit dem Rot aus Giemsa rasch verliert. Die Pepsinverdauung läßt sich sogar als präparatorisches Verfahren empfehlen, um die Rotfärbung des Außenkerns bei Giemsa-Färbung besonders intensiv zu gestalten. Während der ganze Leib der Amöbe sich dann mit Azur nur noch schwach bläulich färbt, heben sich nun die roten Außenkerne besonders kräftig ab. Die feinere Struktur des Außenkerns wird allerdings dabei weniger deutlich; andererseits nehmen eine Reihe von anderen niederen Organismen (Bakterien, Pilzsporen), die sich in den Amöbenkulturen befinden, an der relativen Verstärkung der Rotfärbung durch vorherige Pepsinverdauung teil.

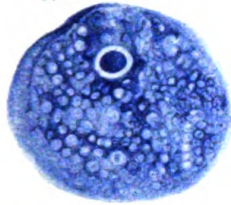
Ebenso beweisend für die Protamin-Natur des bei Giemsa-Färbung roten Außenkerns, wie die bemerkenswerte Fällung durch Pepsin, ist die Resistenz desselben gegen die starken Alkalien: Natron- und Kalilauge, Ammoniak und Barythydrat (Fig. 7). Auch diese Versuche wurden in der Weise angestellt, daß die (mittels Osmiumsäure) fixierten Amöben zunächst mit den Alkalilösungen begossen, kurz abgespült und dann 2 Minuten lang in kochendes Wasser gebracht wurden. Während die letztere Prozedur allein ausnahmslos die sich rot färbende Substanz aus den Außenkernen entfernt, welche dann bei Giemsa-Färbung farblos bleiben, tritt die Rotfärbung sehr deutlich auf, wenn vorher die Behandlung mit Alkalien eingeschoben wurde. Beim Ammoniak genügt dazu das einfache kurze Uebergießen mit der offizinellen Ammoniaklösung, beim Barytwasser eine 2 Minuten lange Einwirkung. Mit 2-proz. Natron- und Kalilauge kann man die Präparate 5 Minuten lang behandeln und findet nach der Giemsa-Färbung wohl die Amöben im Ganzen stark angegriffen und teilweise aufgelöst, aber den Außenkern gut erhalten. Ja, man kann dieses anscheinend übermächtige Lösungsmittel in 40-proz. Lösung auf die Amöben wirken lassen und wird mit der Giemsa-Färbung gerade nur noch den Außenkern wohl erhalten finden.

An diese Alkalien schließt sich die große Gruppe der alkalischen oder alkalisch gemachten Alkaloidreagentien an. Auch hier bestätigte sich durchweg dieselbe Wahrnehmung, daß eine vorherige Behandlung mit denselben die Löslichkeit des Außenkerns in kochendem Wasser aufhebt. Wir haben in dieser Beziehung folgende Alkaloidreagentien untersucht: phosphormolybdänsaures Ammoniak, phosphorwolframsaures Ammoniak, Ferrocyanium, Ferricyanum, Jodjodkalium, Jodquecksilberjodkalium und pikrinsaures Ammoniak. Da eine zu lange Einwirkung dieser alkalischen Mittel der Erhaltung der Amöben nicht günstig ist, so muß die Zeitdauer der Einwirkung nach der Natur der verschiedenen Substanzen geregelt werden. Wir fanden, daß zur Fällung der rot liegenden Substanz bei einer mittels Ammoniaks neutralisierten, gesättigten

## *Zur Chemie der Amöben.*

### *Nachweis von Globulin. Polychrome Methylenblaulösung*

1.



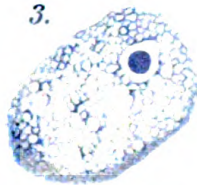
*Normal.*

2.

*2% Kochsalz*

### *Nachweis von Lipoiden. Polychrome Methylenblaulösung*

3.



*Alkohol-Benzin*

4.



*Aceton*

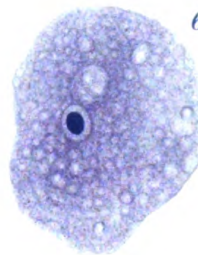
### *Nachweis von Protamin. Giemsa-Lösung.*

5.



*Normal*

6.



*Destill. Wasser*

7.



*Ammoniak*

8.



*Pepsin*



Pikrinsäurelösung ein einfaches Uebergießen gerade hinreicht, während bei Jodjodkalium (Lugol) hierzu eine Viertelstunde notwendig ist. Bei allen übrigen Alkaloidreagentien benutzten wir mit Erfolg eine Einwirkung von 2 Minuten (bei Zimmertemperatur).

Besonders schwerwiegend für die Diagnose: Protamin (auch im Gegensatz zu der von Histon) ist hierbei der Umstand, daß die in den Alkaloidreagentien befindlichen Säuren als solche den Außenkern vollständig von seiner sich rot färbenden Substanz befreien. Wir haben in dieser Rücksicht speziell Pikrinsäure, Phosphormolybdänsäure und Phosphorwolframsäure untersucht und sie alle lösend gefunden im Gegensatz zu entsprechenden Alkalisalzen. Unter den Jodpräparaten sind es auch nur die als Alkaloidreagentien bekannten Doppel- und Tripelverbindungen: Jodjodkalium und Jodkaliumjodquecksilber, welche den Außenkern wasserunlöslich machen, während Jod allein in Gasform, in wässriger und in alkoholischer Lösung sowie Jodkalium die rotliebende Substanz des Außenkerns nicht wasserfest zu machen vermögen.

Endlich spricht noch für die Gegenwart eines Protamins im Außenkern das Erhaltenbleiben der sich rot färbenden Substanz nach Behandlung mit Kupfersulfat, Silbersulfat und Silbernitrat.

### III. Ergebnisse der Histochemie der *Amoeba limax* und ihre biologische Bedeutung.

Der Uebersicht halber haben wir die Schlußfolgerungen, die sich aus unseren Untersuchungen der Histochemie der *Amoeba limax* ergaben, in Form einer Tabelle zusammengestellt:

		Basische Eiweiße			Saure Eiweiße		Lipoide	
Bestandteile:		Schwer lösliches basisches Eiweiß	Leicht lösliches basisches Eiweiß	Protamin	Globulin	Albumosen	Fettsäuren, Glycerinfette, Cholesterin-ester, Lecithin	
Nachge- wiesen durch	Färbung:	Hämato- xylin	Hämato- xylin	Hämato- xylin	Rot aus G i e m s a	Polychrome Methylen- blaulösung	Polychrome Methylen- blaulösung	Polychrome Methylenblau- lösung
	Löslich- keit:	1-proz. Trypsin- lösung	Aq. dest.	2-proz. NaCl	nicht lösl. in KOH, Pepsin	2-proz. NaCl	Aq. dest.	Aceton, Alko- hol + Benzin
Innenkern		+	—	—	—	+	—	—
Außenkern		+	—	—	+	—	—	—
Endo- plasma	Waben- umgebung	+	—	+	—	+	—	+
	Waben- inhalt	—	+	—	—	—	+	+
Ecto- plasma	Waben- umgebung	+	—	—	—	+	—	+
	Waben- inhalt	—	—	—	—	—	+	+

Man erkennt aus dieser Tabelle, daß wir es, abgesehen von den Lipoiden, mit wenigstens 6 verschiedenen Eiweißsubstanzen zu tun haben, welche sich vermöge ihrer abweichenden Färbungs- und Lösungseigenschaften unterscheiden lassen und in verschiedenen Kombinationen die einzelnen Abschnitte des Amöbenleibes zusammensetzen. Diese Anzahl von 6 Eiweißarten stellt jedoch nur das Minimum dar, welches wir in

der Amöbe anzunehmen haben. Neu aufgefundene, differenzierende Färbemethoden können die Anzahl vermehren. Wir halten diese Aussicht aber nicht für sehr groß, da wir etwa 100 saure und basische Färbungen durchgeprüft haben, ehe wir als die lehrreichsten die drei der Arbeit zugrunde gelegten Färbemethoden auswählten. Hätte unter diesen vielen Färbungsmethoden eine oder die andere irgendeine Struktur im Amöbenleibe in besonderer und abweichender Art hervorgehoben, so hätte sie der chromolytischen Analyse mit zugrunde gelegt werden müssen. Aber alle ließen sich bisher auf das Schema der drei gewählten Färbungen zurückführen.

Bei diesen Färbungsversuchen trat besonders ein negatives Ergebnis in entscheidender Weise in den Vordergrund, nämlich die Unmöglichkeit, in der Amöbe in irgendeiner Weise mittels Methylgrüns ein Kernbild hervorzurufen oder überhaupt irgendeine Struktur zu verdeutlichen. Diese Tatsache schließt das Vorkommen von Nukleinsäure und Nuklein in der Amöbe vollkommen aus. Der primitive Kern der Amöbe ist also nukleinfrei. Es ist dieses sein wichtigster Unterschied von dem Kern der Metazoen. Da wir nun wissen, daß dieser außer seiner Funktion der Kern- und Zellteilung die ebenso wichtige und universellere Aufgabe hat, den molekularen Sauerstoff der Lymphe für die Zwecke der Erhaltung des Organismus zu aktivieren, und da die Nukleinsäure und ihre Eisenverbindungen vornehmlich diesem Zwecke dienen, so ist der Schluß gerechtfertigt, daß im Amöbenkern kein solcher Sauerstoff aktivierender Ort vorhanden ist.

Es könnte nun die Meinung entstehen, daß vielleicht bei diesen Protozoen eine andere chemische Verbindung die Rolle der Nukleinsäure übernehme, da doch für die Erhaltung ihrer Lebensäußerungen ein Sauerstoffwechsel gerade so nötig ist wie bei der Zelle der Metazoen, und es ist deshalb nicht ohne Wert, zu untersuchen, ob im Amöbenleibe irgendwo überhaupt Orte vorkommen, an denen Sauerstoff aktiviert oder gespeichert wird. Solche Orte nennen wir bei den höheren Tieren: Sauerstofforte und finden sie im Kernchromatin (Chromosomen, Mitosen), in den Kernkörperchen, sauren Kernen und Mastzellen, im Granoplasma, Nissl-Körpern und Knorpel.

Es ist nun aber bezeichnend für den Sauerstoffwechsel der Amöbe, daß ihr solche Sauerstofforte vollständig fehlen. Durch Rongalitweiß, welches auf alle Sauerstofforte mit dunkelblauer Verfärbung reagiert, läßt sich dieses Fehlen eines Sauerstoffortes, zumal im Kern, leicht nachweisen. Es tritt bei der Rongalitweißfärbung nie die charakteristische Blaufärbung in den Amöben auf. Dagegen verhält sich der ganze Leib der Amöbe, Ektoplasma, Endoplasma und Kern, gegen Kalipermanganat reduzierend und kann also als Ganzes als ein Reduktionsort betrachtet werden.

Das Fehlen der Nukleinsäure in der Amöbe gewinnt hiernach eine etwas veränderte und genauer präzisierbare Bedeutung: die Amöbe bedarf überhaupt keines Sauerstoffortes zum Leben und daher auch nicht der Nukleinsäure. Es ist auch unschwer zu verstehen, daß nackte Einzeller in Luft, Süßwasser und Seewasser derartig vom Sauerstoff der Luft und des Wassers beständig durchflutet, gleichsam „gelüftet“ werden, daß sie besonderer Brennpunkte des Sauerstoffwechsels nicht bedürfen. Die Amöben teilen diesen Vorzug mit unendlich vielen Einzellern. Erst wenn diese Einzeller eine feste, porenlose Außenhaut ausbilden, welche die beständige Durchflutung mit Sauerstoff hindert, wie z. B. die Ciliaten, entsteht das Bedürfnis nach Sauerstofforten, nach einer Lokalisation des Sauerstoffes im Körper, und ein

bestimmtes eiweißartiges Substrat übernimmt dann die Funktion, den molekularen Sauerstoff zu speichern und zum Nutzen der Gesamtzelle zu aktivieren. So bildet das bekannte Pantoffeltierchen (*Paramäcium*) in bescheidener Weise einen kleinen, mit Methylgrün färbbaren, nukleinhaltigen Kern, den Nebenkern, aus, welchem, in eine Bucht des großen Hauptkernes eingelagert, die doppelte Aufgabe zufällt, für die Teilung des Individuums und für sein Sauerstoffbedürfnis zu sorgen.

Wir müssen uns also den Sauerstoffwechsel der Amöbe als den denkbar einfachsten vorstellen. Der Sauerstoff diffundiert frei aus Luft und Wasser durch Ektoplasma, Endoplasma und Kern und wird, ohne daß eine besondere Speicherung oder Aktivierung nötig wäre, vom überall vorhandenen basischen, reduzierenden Eiweiß direkt aufgenommen und zur Verbrennung von reduzierenden Abfall- und Ermüdungsstoffen verbraucht. Da nirgendwo im tierischen Körper das reduzierende, basische Eiweiß bereits die Grundlage eines Sauerstoffortes abgibt und dazu immer erst der Durchsetzung mit einem sauren Eiweiß (Nuklein, Globulin, Cytose, Chondrin) bedarf, so könnte man auf den Gedanken kommen, daß das im Ektoplasma, Endoplasma und Kern der Amöbe vorhandene Globulin, welches sich mit basischen Farben färbt und durch 2-proz. Kochsalzlösung ausziehen läßt, ähnlich wie das Globulin in den Kernkörperchen und sauren Kernen der Metazoen, den Sauerstoff, wenn auch nicht nach Art des Nukleins aktivieren, so doch speichern könne. Aber dieser Gedanke muß nach dem Rongalitweißbilde der Amöbe aufgegeben werden. Ein Sauerstoffspeicher nach Art der Kernkörperchen oder des Granoplasmas findet sich, nach dem negativen Ausfall des Rongalitweißbildes zu urteilen, im Globulin des Amöbenleibes nicht. Wohl wird dieses Globulin, wie das der höheren Tiere, als saurer Eiweißkörper befähigt sein, Sauerstoff aufzunehmen, aber es gibt denselben dann offenbar an das mit ihm eng verbundene basische Eiweiß (I) sofort wieder ab.

Wie das Unvermögen, Sauerstofforte mit Aktivierungsvermögen zu bilden, sich aus dem Mangel an Nuklein erklärt, so hängt die Unfähigkeit zur Bildung eines Sauerstoffspeichers auf Grund des Globulingehaltes wohl zusammen mit dem Mangel an einem sauren, reduzierenden Eiweiß im Amöbenkörper, wie ihn die menschliche Epithelzelle, z. B. die Stachelzelle, besitzt. Neuere Untersuchungen mit Neutralviolett extra (N. V.)<sup>1)</sup> haben nämlich gelehrt, daß von den zwei basischen Komponenten desselben, Neublau und Neutralrot, das Neublau nur saures, reduzierendes Eiweiß färbt (Epithelprotoplasma, Muskelsubstanz), das Neutralrot nur saures, oxydierendes Eiweiß. Zwischen die basische Grundlage der Epithelzelle und die saure Cytose derselben, die als Sauerstoffspeicher fungiert, schiebt sich also ein saures, reduzierendes Eiweiß ein, welches die Blaufärbung durch Neutralviolett bedingt. Färbt man nun Amöben mit Neutralviolett, so färbt sich die ganze Zelle rosa. Diese Färbung kann nur vom Globulingehalt herühren, welches das einzige saure Eiweiß des Plasmas ist und bleibt daher auch aus, wenn das Globulin durch Kochsalz ausgezogen ist, sie entspricht auch ganz der Rotfärbung des Kernkörperchenglobulins bei der Neutralviolettfärbung der Epithelzelle. Aber die Blaufärbung des Plasmas der Epithelzelle bei derselben Färbung bleibt aus. Das Neublau des Neutralvioletts färbt das Plasma der Amöbe nicht an, weil dasselbe ein saures und zugleich reduzierendes Eiweiß, wie

1) Unna u. Golodetz, Neutralviolett extra. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 90. Abt. 1. 1917. S. 69—97.)



die Epithelzelle und Muskelzelle, nicht enthält (s. Tabelle). Zur Ausbildung eines Sauerstoffspeichers, wie ihn die Epithelzelle besitzt und die Amöbe vermissen läßt, gehört also die Ausbildung von reduzierendem, saurem Eiweiß, welches sich zwischen die reduzierende, basische Eiweißgrundlage der Zelle und das saure Globulin einschiebt, die Berührung beider Eiweiße verhindert und dadurch den unmittelbaren Verbrauch des von letzterem stetig aufgenommenen Sauerstoffes erschwert. So erklärt sich aufs Einfachste, daß die sauren Einlagerungen im Kern der Metazoen, Cytose und Globulin, zu Sauerstoffspeichern werden können. Und es wird weiter verständlich, daß unter den sauren Eiweißen der Amöbe Nuklein sowie ein saures, reduzierendes Eiweiß fehlt und den 4 basischen Eiweißen derselben nur 2 saure gegenüberstehen: Globulin und Albumosen.

Unter diesen charakterisiert das Globulin allein die feste Substanz des Innenkernes und der Wabenumgebung im Endo- und Ektoplasma; es fehlt dem Außenkern vollständig und begreiflicherweise auch dem Wabeninhalt, welcher von den Eiweißen nur wasserlösliche, nämlich außer den Albumosen noch ein wasserlösliches, basisches Eiweiß, das sich mit Hämatoxylin färben läßt, enthält. Die Hauptsubstanz der Wabenumgebung aber sowohl im Endoplasma wie im Ektoplasma besteht aus einem nur in Trypsin löslichen, basischen Eiweiß, zu dem sich nur im Endoplasma noch ein in 2 Proz. Kochsalz lösliches, basisches Eiweiß zugesellt, welches wir bisher im Ektoplasma nicht mit Sicherheit nachweisen konnten. Der Kern enthält außer dem Globulin im Innenkern auch eine trypsinlösliche, basische Eiweißgrundlage. Dieselbe Grundlage besitzt der Außenkern, aber seine Einlagerung besteht nicht aus saurem Globulin, sondern aus basischem Protamin.

Es war uns überraschend, daß der Kern in seinen beiden Teilen nicht ebenso wie das Plasma neben der trypsinlöslichen basischen Grundlage noch die leichter löslichen basischen Eiweiße enthält. Wir mußten uns aber mit dieser Schlußfolgerung befreunden, da wir bei Behandlung mit Wasser und Kochsalzlösung am Kern nie einen tinktoriell nachweisbaren Substanzverlust bemerken konnten, dagegen immer eine Zunahme des Färbungsvermögens. Wenn irgendwo nach einer Extraktion das vorher vorhandene Färbevermögen erheblich vermindert ist, muß man mit Sicherheit einen Substanzverlust annehmen. Wenn aber umgekehrt, nach einer Extraktion an solchen Teilen, die keine Abschwächung der Färbung erkennen lassen, wie hier der Kern, sogar eine erhebliche Zunahme des Färbevermögens festzustellen ist, läßt dieser Umstand eine verschiedene Deutung zu. Einerseits könnte man die Annahme machen, daß gelöste, färbbare Substanzen in den nun stärker gefärbten Teil (hier: den Kern) hineindiffundiert sind und daselbst festgehalten werden. Andererseits kann dieser färberische Kontrast aber auch als eine reine Kontrastfärbung aufzufassen sein. Wir haben nämlich immer die Beobachtung machen können, daß in derselben Farbflüssigkeit die nach Extraktionen zurückbleibenden Teile sich stärker färbten als vor der Extraktion, wohl einfach deswegen, weil dann die Farblösung in konzentrierterer Form allein auf diese einwirken kann. Wir möchten daher dieser Erklärung, nämlich der Annahme einer Verstärkung als Folge tinktorieller Isolierung den Vorzug geben, besonders da die erstere Annahme die Einführung einer Hilfshypothese nötig machen würde. Eine derartige Mehrdeutigkeit ist natürlich bei den nach Extraktionen auftretenden Abschwächungen und vollständigen Verlusten

des Färbungsvermögens ausgeschlossen; diese sprechen immer eindeutig für einen Substanzverlust.

Aus demselben Grunde konnten wir uns nicht zu der Annahme von Lipoiden im Kern verstehen, während wir ihr Vorhandensein in allen Teilen des Plasmas durch die Abschwächung der Färbung nach der Lipoidextraktion mit Sicherheit nachweisen konnten. Auf eine weitergehende chromolytische Analyse der einzelnen Lipoiden haben wir bisher noch verzichtet, da die färberischen Vorarbeiten, wie wir sie durch Ehrlich für die Eiweiße gewonnen haben, für die Lipoiden im Allgemeinen noch fehlen. Die gewiß hoch anzuerkennenden Ansätze zu einer solchen, wie z. B. der färberische Nachweis der Oelsäure und des Lecithins, geben noch keine genügend breite Basis für eine derartige chromolytische Untersuchung.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Aetiologie der Variola.

[Aus der städt. Krankenanstalt (Geh.-Rat Prof. Dr. Hoppe-Seyler) und aus dem Pathologischen Institut der städtischen Krankenanstalt (Prosektor Dr. Emmerich) zu Kiel.]

Von Dr. **Hallenberger**, Regierungsarzt beim Kaiserl. Gouvernement Kamerun, Marinestabsarzt d. Res., zurzeit Kiel.

Mit 2 Tafeln und 6 Textfiguren.

Gelegentlich des Vorkommens einer Anzahl von Pockenfällen in Kiel konnte ich mich mit Untersuchungen über den vermutlichen Pockenerreger, das Chlamydozoon variolo-vaccinae v. Prowazeks beschäftigen. Wenn meine Untersuchungen auch nichts wesentlich Neues zutage befördert haben, so sollen meine Beobachtungen doch mitgeteilt werden, da sie vielleicht geeignet sind, die bisherigen Mitteilungen über das Pockenvirus, besonders die Paschens und v. Prowazeks, zu stützen bzw. zu ergänzen. Da ich auf die Identität des Variola- und Vaccinevirus später nicht mehr eingehen will, so muß ich zur Erledigung dieser Frage vorausschicken, daß diese Identität zweifelsfrei feststeht, daß die Vaccine lediglich eine abgeschwächte Form der Variola darstellt.

Es liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit, eine Uebersicht über die Geschichte der Pockenforschung zu geben, ein Hinweis auf die Ausführungen v. Prowazeks in seinem Handbuch der pathogenen Protozoen dürfte genügen, und ich beschränke mich deshalb darauf, einige historische Daten über die Guarnierischen Körperchen, diese für die Pockendiagnose so wichtigen Zelleinschlüsse, anzuführen, um dann auf das eigentliche Virus überzugehen.

Bereits 1874 sah Weigert in einzelnen Epithelzellen der Pockenpusteln neben den Kernen kleine, eigenartige Gebilde, die er beschrieb, ohne sich über ihre Natur weiter zu äußern. Eine genauere Beschreibung aus dem Jahre 1891 der wegen ihres Vorkommens auch in der Vaccinepustel als Vaccinekörperchen bezeichneten Gebilde verdanken wir L. Pfeiffer. Heute sind diese Gebilde allgemein als Guarnierische Körperchen bekannt, und man hat sie so genannt, weil Guarnieri 1892 gefunden hatte, daß man die Entstehung und Entwicklung dieser Zelleinschlüsse in den Epithelien der geimpften Kaninchencornea weit besser verfolgen kann, als in den menschlichen Vaccine- oder Variolapusteln.

Die Guarnierischen Körperchen sind stark mit Kernfarbe sich färbende Gebilde

von wechselnder Größe und Gestalt, sind meist von einer mit Plasmafarbe sich färbenden, körnigen Zone umgeben und finden sich in den Epithelien der geimpften Kaninchencornea besonders in der Umgebung der Impfstelle. Die meisten Untersucher sahen diese Guarnierischen Körperchen für die Erreger der Variolavaccine an und hielten sie für Protozoen, eine Annahme, die ebensowenig wie all die anderen Hypothesen über die Natur der Guarnierischen Körperchen, auf die ich hier nicht näher eingehen will, nach den Untersuchungen von v. Prowazek, Foà u. a. aufrecht erhalten werden kann. Von den Gründen, die gegen die Erreger- und Protozoennatur der Guarnierischen Körperchen sprechen, will ich nur die 2 hauptsächlichsten anführen: Das Variolavaccinavirus ist filtrierbar, während die Guarnierischen Körperchen wegen ihrer Größe auf jedem Filter zurückgehalten werden; ferner kann man die Guarnierischen Körperchen durch Behandlung schon mit 10-proz. NaCl-Lösung zur Auflösung bringen, ohne daß das Virus zugrunde geht. Nichtsdestoweniger stehen die Guarnierischen Körperchen mit dem Erreger in engem Zusammenhang, denn nach der heute allgemein geltenden Annahme sind sie als Reaktionsprodukte der erkrankten Zelle aufzufassen, und zwar als spezifische, deren Vorhandensein in der geimpften Kaninchencornea das Vorliegen von Variola oder Vaccine beweist. Es kommt den Guarnierischen Körperchen demnach neben wissenschaftlichem Interesse auch die größte diagnostische Bedeutung zu. Auf die Art und Weise ihrer Entstehung werde ich später zurückkommen.

Unsere heutigen Kenntnisse über den vermeintlichen Erreger sind noch nicht sehr vollkommen und ruhen zudem noch auf schwachen Füßen.

Bei seinen Versuchen, Vaccinavirus auf die Kaninchencornea zu übertragen, konnte v. Prowazek 1905 in dem Zellprotoplasma der Corneaepithelien sowohl neben den Guarnierischen Körperchen wie in ihnen kurze ovale oder fadenförmige,  $1-1\frac{1}{2}$   $\mu$  lange Gebilde nachweisen, die sich vielfach in 2 ungleichgroße Punkte zerschnüren und zuweilen von einem hellen, eiförmigen Hofe umgeben sind. Diese Gebilde brachte v. Prowazek in Zusammenhang mit dem Vaccinavirus, da er sie nur in den mit Vaccine behandelten Kaninchencorneen sah, und da sie bereits  $1\frac{1}{2}$  Stunden nach erfolgter Impfung vorhanden sind, nannte er sie Initialkörperchen. Fast gleichzeitig 1906 sah Paschen in Ausstrichen von Vaccinopusteln sehr kleine, etwa  $\frac{1}{2}$   $\mu$  große, runde, bewegungslose, gleichmäßig gefärbte Körperchen, die sich in der Mitte teilen, wobei die Hälften durch einen feinen Faden verbunden bleiben. Dieselben Gebilde fand Paschen im Pockenpustelinhalt, und da sie hier sowohl, wie in den Vaccinopusteln, ebenso regelmäßig vorhanden sind, wie sie in Windpocken und anderen mit Blasenbildung einhergehenden Hautaffektionen fehlen, erklärte sie Paschen für den Erreger. v. Prowazek und Yamamoto konstruierten eine Zusammengehörigkeit der von v. Prowazek und Paschen gesehenen Gebilde, indem sie sich auf den Standpunkt stellten, daß es sich um verschiedene Entwicklungsstadien ein und desselben Mikroorganismus handle. Der Entwicklungsvorgang des Variolavaccinavirus gestaltet sich nach v. Prowazek folgendermaßen: Die Infektion wird vermittelt und beginnt mit kleinsten im Leben mäßig lichtbrechenden, im Dunkelfeld aufleuchtenden runden Körperchen, die in ihrer Größe etwas schwanken, sich durch Hanterteilung vermehren und dabei Diploform annehmen; sie führen oszillierende Bewegungen aus, besitzen keine Bewegungsorgane und sind filtrierbar. Nach erfolgter Injektion liegen sie intra- und extrazellulär. v. Prowazek nannte diese Gebilde Elementarkörperchen. Die in die Epithelzellen eingedrungenen Erreger machen im Zellplasma einen Entwicklungsvorgang nach Art der Protozoen durch, und die ersten Stadien der Entwicklung in der Pocken- und Vaccinopustel sowie in der Kaninchencornea sind die schon erwähnten Initialkörperchen. Sie sind größer als die Elementarkörperchen, haben kurzovale, zuweilen fast rechteckige oder fächerförmige Gestalt, schnüren sich bei der Teilung hantelförmig ein, wobei fast regelmäßig 2 ungleichgroße Punkte entstehen; umgeben sind sie zuweilen von einem hellen eiförmigen Hofe. In der Folge wird ein Teil dieser Initialkörperchen von einer transparenten, im Giemsa-Präparat rot gefärbten Substanz umhüllt, und an diese lagern sich, meist zuerst polar, im Giemsa-Präparat blau gefärbte, körnige Massen an. Diese beiden Komponenten sind die ersten Anfänge der Guarnierischen Körperchen; es handelt sich um Reaktionssubstanzen der Zelle, um Chromatin (rot) und Plastin (blau). In diesen spezifischen Reaktionsprodukten, den Guarnierischen Körperchen, die mit der Weiterentwicklung der Initialkörperchen an Umfang zunehmen, mannigfache Formen annehmen können und mit dem Zellprotoplasma innig verbunden sind, vermehren sich die Initialkörperchen, wobei einige in das Zellprotoplasma übertreten; die Entwicklung der Initialkörperchen ist mit der Aufteilung in zahllose Elementarkörperchen, die mit dem Zerfall der Guarnierischen Körperchen einhergeht, beendet. Die so entstandenen Elementarkörperchen sind die Infektionsvermittler.

Als bemerkenswert bezeichnet es v. Prowazek, daß nicht alle Initialkörperchen

die Bildung der Guarnierischen Körperchen auslösen, so daß man stets einige von ihnen frei im Zellplasma liegen sieht; trotzdem zweifelt er nicht an der Spezifität der Guarnierischen Körperchen da, wo sie vorhanden sind.

v. Prowazek nannte den vermeintlichen Pockenerreger *Chlamydozoon variolo-vaccinae* und reichte ihn somit in eine besondere Gruppe von Krankheitserregern, die Chlamydozoen, ein, zu der die Erreger der Lyssa, des Trachoms, des Molluscum contagiosum, der Geflügelpocke usw. gehören, und die ihren Namen dem Umstande verdanken, daß die von ihnen befallenen Zellen, ehe sie zugrunde gehen, auf das Eindringen der Erreger mit erhöhter Produktion von Chromatin und Platin antworten und mit diesen Reaktionsprodukten die Erreger wie mit einem Mantel (*chlamys*) einhüllen. Dieser Mantel ist bei der Variolavaccine das Guarnierische Körperchen. Auf Grund des von ihm angenommenen Entwicklungsganges der Chlamydozoen in der tierischen Zelle neigte v. Prowazek zunächst dazu, diese Gruppe von Mikroorganismen zu den Protozoen zu stellen, einer Auffassung, der von anderer Seite entschieden entgegengetreten wurde, und die v. Prowazek selbst revidierte, indem er die Chlamydozoen für ein selbständiges, zwischen Protozoen und Bakterien stehendes System erklärte. Die Akten über diese Frage, die wegen der Kleinheit der vermeintlichen Erreger nicht leicht zu lösen ist, sind noch längst nicht als geschlossen zu betrachten.

Ich gehe nun zu meinen eigenen Studien über die Morphologie und Biologie des vermutlichen Pockenerregers über und will zunächst einige Bemerkungen über die Technik vorausschicken. Zum Studium der extrazellulären Paschenschen Körperchen stellte ich mir möglichst dünne Ausstriche nach Art der Blutausstriche von frischem, serösem, sowie von Pockenpustelinhalt her, der durch ein Bakterienfilter geschickt war; die Ausstriche wurden nach Lufttrocknung in destilliertem Wasser vom Serum befreit, in Methylalkohol bzw. Sublimatalkohol fixiert und mit Loefflers Geißelfärbung sowie mit Giemsa-Lösung (24 Stunden) gefärbt. Zur Darstellung der intrazellulär liegenden Elementar- und Initialkörperchen benutzte ich Pockenpustelausstriche und Klatschpräparate von geimpften Kaninchencorneen, die nach Giemsa's Vorschrift feucht mit heißem Sublimatalkohol fixiert, in der bekannten Weise weiter behandelt und 24 Stunden mit ganz dünner Giemsa-Lösung gefärbt wurden. Zur Herstellung von Schnitten wurden exzidierte Pockenpusteln und geimpfte Kaninchencorneen lebenswarm in heißem Sublimatalkohol fixiert und gleichfalls nach Giemsa gefärbt. Von anderen Färbemethoden bin ich sehr bald abgekommen, da bei keiner anderen Färbung die farben-chemische Reaktion der beiden Komponenten der Guarnierischen Körperchen so schön und kontrastreich und die dunkelrote Färbung der Pockenkörperchen so distinkt zum Ausdruck kommt wie bei der Giemsa-Färbung. Erwähnen will ich hier gleich, daß ich feucht fixierte Ausstriche von Pockenpustelinhalt, in denen sich stets genügend abgestoßene Epithelzellen finden, sowie Klatschpräparate von Kaninchenhornhäuten für viel geeigneter zum Studium der Zellveränderungen und der Zelleinschlüsse halte als Schnittpräparate, da an letzteren die durch das Einbetten unvermeidlichen Schrumpfungsprozesse beim Studium der in Frage kommenden winzigen Gebilde eine ganz erhebliche und störende Fehlerquelle bilden; ein Hinweis auf die Zusammenballungen von Platin infolge Schrumpfung auch bei völlig normalen Zellen dürfte hier genügen. Trotzdem müssen auch Schnitte herangezogen werden, da gewisse Zellveränderungen, wie z. B. Zellen in hochgradiger ballonierender Kolliquationsnekrose, nur im Zellverband in richtiger Weise zur Darstellung gebracht werden können.

Zwecks Nachprüfung der bereits erwähnten Mitteilung Paschens, daß sich der Pockenerreger im Pustelinhalt nachweisen läßt, untersuchte ich eine größere Anzahl von Pustelausstrichen, und ich kann berichten,

daß sich die extrazellulären Paschenschen Körperchen in jedem Pustelausstrich und zuweilen in ganz ungeheurer Menge, wie Textfig. 1 zeigt, fanden; war der Pustelinhalt vor Einsetzen der Suppuration entnommen, dann war die Beimengung von Bakterien häufig so geringfügig, daß viele Gesichtsfelder das Aussehen eines Reinkulturausstriches boten. Im ungefärbten frischen Präparat erschienen die Paschenschen Körperchen als winzige, runde, mäßig lichtbrechende Körnchen in Molekularbewegung; im gefärbten Präparat sah ich neben den teils einzeln, teils in Doppelpunktstellung, in Häufchen und kurzen Ketten liegenden gleichmäßig großen, runden Körperchen auch längliche Teilungsformen, diese jedoch nur in Form einer mehr oder weniger durchgeschnürten Hantel. Vom Vorhandensein von Körperchen, die, wie es Paschen beschreibt, nach vollendeter Teilung noch durch einen feinen, fädigen Fortsatz verbunden sind, habe ich mich nicht überzeugen können. Bewegungsorganellen

fehlen. Die Paschenschen Körperchen bleiben mit ihrer Größe von  $\frac{1}{2} \mu$  (Loeffler-Präparat!) ganz erheblich hinter den kleinsten bekannten Bakterien zurück, und dieser ausgesprochene Größenunterschied läßt eine Verwechselung von Kokken und Paschenschen Körperchen nicht zu; außerdem passieren die Paschenschen Körperchen jedes Bakterienfilter, und man kann sie ohne Schwierigkeiten im filtrierten, nunmehr bakterienfreien Pustelinhalt wiederfinden. Zum Nachweis der extrazellulären Paschenschen Körperchen eignet sich auch der Pustelschnitt, nur ist dabei zu beachten, daß die Paschenschen Körperchen, wie



Fig. 1. Paschensche Körperchen im primären Pockenpustelausstrich. Färbung nach Löffler. Vergr. 1:1500.

im nach Giemsa gefärbten Ausstrich, so auch im Giemsa-Schnitt erheblich kleiner sind als im Loeffler-Ausstrich; ihre Größe beträgt hier etwa  $\frac{1}{4} \mu$ . Die intrazellulären Paschenschen Körperchen, die v. Prowazek als Elementarkörperchen bezeichnet hat, werde ich zusammen mit den Initialkörperchen behandeln. Auf die ätiologische Bedeutung der Gebilde werde ich zum Schluß zu sprechen kommen.

Die Beurteilung der intrazellulär vorkommenden und als Pockenerreger anzusehenden Gebilde gestaltet sich etwas schwieriger, und zwar ganz besonders an Schnittpräparaten; und obwohl ich den Beobachtungen an Schnittpräparaten einen gewissen Mangel an Eindeutigkeit nicht absprechen kann, darf ich sie nicht übergehen, da die v. Prowazekschen Mitteilungen über das Variolavaccinavirus nicht zum kleinsten Teil auf dem Studium der Zelleinschlüsse an Schnittpräparaten beruhen. In den Epithelzellen der Pockenpustel und der geimpften Kaninchen-cornea konnte ich ganz verschiedenartig geformte Gebilde sehen, deren Deutung manchmal auf ganz erhebliche Schwierigkeiten stieß, oder, und das gilt besonders für die Pockenpustel, mir zuerst überhaupt nicht ge-

lang, weil nicht zu entscheiden war, was infolge der Schrumpfungsprozesse bei der Einbettung im Zellprotoplasma entstandene und fremde Zelleinschlüsse vortäuschende Plastinzusammenballungen waren, was Zellgranula, die möglicherweise nach Untergang von Epithelzellen des Stratum granulosum vom Lymphstrom verschleppt, von den granula-freien Zellen der tieferen Schichten phagozytiert waren und besonders leicht zu Verwechslungen mit parasitären Zelleinschlüssen Veranlassung geben konnten, und was wirklich parasitäre Einschlüsse waren. Neben kleinsten runden Körnchen von der Größe der Paschenschen Körperchen, die zu 2 oder mehreren beieinander lagen, sah ich an Einschlüssen, die als Initialkörperchen hätten gelten können, 1 bis  $1\frac{1}{2}$  mal so große, runde bis kurzovale Gebilde, ferner bis  $1\frac{1}{4} \mu$  große in Form einer ungleichmäßigen Hantel, eines Ausrufungszeichens oder in Form eines ungleichmäßigen Doppel- oder Dreipunktes, sowie größere, zuweilen von einem hellen Hof umgebene Gebilde in Fädchen- oder Kommaform oder mit ganz unregelmäßiger Gestalt. Ich habe zu unterscheiden versucht, was parasitäre Einschlüsse sind und was nicht, und ich glaube, daß mir das gelungen ist, allerdings erst nach längerem Studium an nur wirklich tadellos differenzierten Giemsa-Präparaten und nicht zum wenigsten durch vergleichende Betrachtung feucht fixierter Epithelzellen im Ausstrich- oder Klatschpräparat. Als parasitäre Einschlüsse ansehen und sie den Paschenschen Körperchen, bzw. den v. Prowazekschen Elementarkörperchen gleichstellen möchte ich die kleinsten ( $\frac{1}{4} \mu$ ) runden, distinkten, dunkelroten Körnchen; als Initialkörperchen im Sinne von v. Prowazek kann ich von den übrigen Gebilden nur die absolut scharf umrissenen tief dunkelrot gefärbten, punktbis doppelpunktförmigen Körperchen mit ihren als Vermehrungsstadien anzusehenden Uebergangsformen bis zur Größe von 1, allerhöchstens  $1\frac{1}{4} \mu$  (Textfig. 2) anerkennen. Alle ähnlichen Gebilde ohne dieses distinkte Aussehen scheiden wie alle anders geformten und größeren Einschlüsse aus der Reihe der Initialkörperchen aus. Für die Ansicht v. Prowazeks, daß es auch Initialkörperchen mit Fädchen- und Kommaform gibt, habe ich keinerlei Anhaltspunkte finden können, halte diese Gebilde vielmehr für Reaktions- oder Kunstprodukte. Auch der um manche Einschlüsse zu beobachtende helle eiförmige Hof dürfte ein Kunstprodukt sein, das ebenso wie der freie Raum um den Kern der Epithelzelle und um die meisten Guarnierischen Körperchen durch Schrumpfung entstanden ist. Mein hiermit zum Ausdruck gebrachter Standpunkt stützt sich, wie ich schon andeutete, hauptsächlich auf das Studium der Zelleinschlüsse an feucht fixierten Pockenpustelausstrichen und Klatschpräparaten von der geimpften Kaninchencornea, die wegen des Fehlens nennenswerter Schrumpfungsprozesse an den feucht fixierten Zellen wenig oder keine Kunstprodukte enthalten und daher viel weniger zu Trugschlüssen führen. Ich habe mich deshalb auch zum genaueren Studium der Zelleinschlüsse ausschließlich solcher Präparate bedient.

Ehe ich an die Erörterung meiner Beobachtungen an feucht fixierten Ausstrich- und Klatschpräparaten herantrete, muß ich kurz die Frage streifen, ob man das Pockenvirus in seinem natürlichen Substrat, der Pockenpustel, oder an der geimpften Kaninchencornea studieren soll.

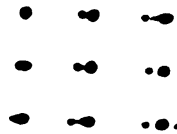


Fig. 2. Initialkörperchen mit seinen als Knospungsformen anzusehenden Uebergängen zum ungleichmäßigen Doppel- oder Dreipunkt (Schematisiert).



Seit der Entdeckung Guarnieris ist bei den experimentellen Pockenimpfungen der Kaninchencornea meist mehr Wert auf das Studium der Guarnierischen Körperchen als auf das des Pockenvirus gelegt worden. Gewiß haben die Kaninchencorneaimpfungen großen diagnostischen Wert und auch ihre Berechtigung, wenn man den intrazellulären Entwicklungsgang des Pockenvirus oder die Entstehung und Entwicklung von Guarnierischen Körperchen, die die Kaninchencornea in exzessiver Weise produziert, verfolgen will, da man nur beim Experiment die Infektionszeit genau kennt und zu jeder gewünschten Stunde Epithelien zur Untersuchung gewinnen kann; für das Studium der Morphologie der intrazellulären Formen des Pockenvirus jedoch bietet uns der zur rechten Zeit entnommene Pockenpustelinhalt im feucht fixierten Ausstrich ausgezeichnetes Material in Gestalt zahlreicher abgestoßener, aber noch wohlhaltener Epithelzellen, die zudem noch in hervorragend schöner Weise die an den infizierten Epithelien der Kaninchencornea fehlenden degenerativen Veränderungen des Zellprotoplasmas erkennen lassen.

Im Protoplasma von Pockenpustelepithelien, die ich durch feucht fixierte Pustelausstriche gewann, konnte ich all die Gebilde, die ich bereits bei den Schnittpräparaten als Elementar- und Initialkörperchen angeführt habe, ohne Mühe als solche erkennen, weil ihre Identifizierung in den feuchtfixierten Zellen aus den schon bekannten Gründen keinerlei Schwierigkeiten machte. Ebenso wie in den Schnittpräparaten erschienen die Elementarkörperchen als winzige, runde Körnchen, die Initialkörperchen größer und nur in den schon oben beschriebenen Formen, vom kreisrunden Korn über alle Vermehrungsstadien bis zum ungleichmäßigen Doppel- oder Dreipunkt, alle deutlich erkennbar durch ihr distinktes tiefdunkelrotes Aussehen. Alle anderen Zelleinschlüsse, meist Reaktionsprodukte des Zellprotoplasmas, die zu Zweifeln hätten Veranlassung geben können, ließen sich unter Berücksichtigung der für die Initialkörperchen gegebenen Kriterien leicht von diesen trennen. Auch den von v. Prowazek erwähnten hellen, eiförmigen Hof um die Initialkörperchen habe ich vermißt; es sei denn, daß man eine sich bisweilen in der Umgebung der Initialkörperchen bemerkbar machende, sich jedoch nicht scharf absetzende hellere Färbung des Protoplasmas oder eine von eventueller Plastinausflockung freigelassene Zone für den Hof v. Prowazeks ansehen will. Die Elementarkörperchen liegen einzeln, manchmal auch in kleinen Gruppen und kurzen Reihen und können, wie die fast stets in der Einzahl liegenden Initialkörperchen, über die ganze Zelle zerstreut sein. Wie an Schnittpräparaten zu sehen ist, liegen die intrazellulären Pockenkörperchen jedoch meist nur in dem dem Pustelhohlraum bzw. der Impfstelle zugekehrten Teil des Zelleibes. Ueber das Vorkommen von Initialkörperchen im Kern sind die Meinungen geteilt; da sie jedoch in Guarnierischen Körperchen eingeschlossen im Kern vorkommen, ist nicht einzusehen, warum sie nicht auch ohne Umhüllung im Kern liegen sollen. Eine sichere Erkennung hat dann allerdings als ausgeschlossen zu gelten. Die spezifischen Reaktionsprodukte der Epithelzelle auf das Eindringen des Virus, die Guarnierischen Körperchen, sind in der Pockenpustel äußerst spärlich und bisweilen nur ganz rudimentär; dichte und kompakte Guarnierische Körperchen mit ihren 2 Komponenten, dem Chromatin und dem Plastinmantel, gehören zu den Ausnahmen, häufig fehlt eine der Komponenten überhaupt, oder die Reaktionsfähigkeit der Zelle ist mit der Ausscheidung einiger Plastinflöckchen in der Umgebung der Initialkörperchen erschöpft. In einigen Zellen hat



scheinbar das ganze Cytoplasma eine Umwandlung erfahren, was dadurch zum Ausdruck kommt, daß es trotz bester Differenzierung die Farbe nicht abgibt, sondern einen dunklen violetten Farbenton behält (Fig. 13, Taf. I). Die meisten Epithelzellen jedoch lassen jede Spur von Reaktionsprodukten vermissen. Die Einwirkung des Pockenvirus auf die menschlichen Hautepithelien kommt in folgender Weise zum Ausdruck: zunächst setzt eine lebhafte Proliferation des Epithels ein, die zu einer Epithelverdickung und damit zur Papel führt; erst relativ spät beginnen innerhalb der Papel die degenerativen Veränderungen der Epithelzellen, die retikuläre und ballonierende Kolliquation, deren Endeffekt die Pockenpustel ist. Ich will auf diese mehr ins Gebiet der Histopathologie gehörenden degenerativen Veränderungen nur kurz hinweisen und sie durch einige Abbildungen illustrieren (Fig. 14—20, Taf. I).

In feucht fixierten Klatschpräparaten von der geimpften Kaninchencornea fand ich in den Epithelzellen an Einschlüssen, die wegen ihres distinkten tiefdunkelroten Aussehens als Initial- und Elementarkörperchen anzusehen waren, und die ich zusammenfassend Pockenkörperchen



Fig. 3.

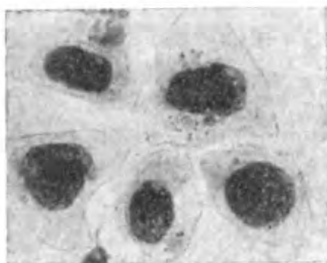


Fig. 4.



Fig. 5.

Fig. 3 und 5. Epithelzellen aus Klatschpräparat der Kaninchencornea 6 Stunden nach der Impfung, im Cytoplasma neben Pockenkörperchen Reaktionsstoffe der Zellen.

Fig. 4. Epithelzelle aus Klatschpräparat der Kaninchencornea 48 Stunden nach der Impfung, im Cytoplasma 11 Guarnierische Körperchen in verschiedener Größe und Färbung, einzelne mit Einschlüssen, daneben frei liegende Pockenkörperchen. Färbung: Giemsa, Vergr. 1:1500.

nennen möchte, nur die bereits für die Pockenpustel beschriebenen Formen. Erfahrungen über das zeitliche Auftreten der Pockenkörperchen in den Epithelzellen sowie über ihren intrazellulären Entwicklungsgang konnte ich durch die in regelmäßigen Zeitabständen vorgenommenen Untersuchungen geimpfter Kaninchenhornhäute gewinnen. Bereits 2—3 Stunden nach der Impfung können sich im Zellplasma einzelner Epithelien neben winzigen, als intrazelluläre Paschensche bzw. Elementarkörperchen anzusprechenden Einschlüssen auch schon vereinzelt Exemplare der größeren Initialkörperchen finden. Nach 6 Stunden ist die Zahl der befallenen Zellen erheblich größer, und auch die Menge der Pockenkörperchen innerhalb der Zellen hat zugenommen. An den Initialkörperchen sind alle Uebergänge vom runden Korn bis zum ungleichmäßigen Doppel- oder Dreipunkt vorhanden. Irgendwelche weiteren Entwicklungs- oder Teilungsformen als diese Initialkörperchen habe ich auch in späteren Stunden nie finden können, so daß die Annahme, daß der Pockenerreger in den Initialkörperchen sein höchstes Entwicklungsstadium erreicht, wohl berechtigt erscheint. Ich möchte nicht unterlassen, hier auf gewisse Zellveränderungen aufmerksam zu

machen, die zu Täuschungen Veranlassung geben könnten. Fig. 46–48, Taf. II, zeigen 3 verschiedene Stadien des Kernzerfalles in Epithelien mit gut erhaltenem Cytoplasma, wobei runde, mit Kernfarbe noch gut gefärbte Kerntrümmer, die größte Ähnlichkeit mit Pockenkörperchen haben können, zuerst in der nächsten Umgebung des zerfallenden Kernes, später über den ganzen Zelleib zerstreut liegen. Die ungleichen Größenverhältnisse der Kerntrümmer untereinander und das Fehlen jeglicher Reaktionserscheinungen im Plasma der so sehr reaktionsfähigen Kaninchencorneaepithelzellen lassen es als ausgeschlossen erscheinen, daß es sich um Pockenkörperchen handelt, oder daß gar der Kernzerfall auf ihren schädigenden Einfluß zurückzuführen ist.

Wie steht es nun mit der Zusammengehörigkeit der Paschenschen Körperchen mit den Elementar- und Initialkörperchen v. Prowazeks? Auf Grund eingehender Studien glaubten v. Prowazek und Yamamoto, diese Zusammengehörigkeit gefunden zu haben und erklärten die Initialkörperchen für die einen intrazellulären Entwicklungsgang durchlaufenden Formen der Paschenschen Körperchen, die v. Prowazek seinen Elementarkörperchen gleichstellte, wohingegen Paschen mehr die extrazelluläre<sup>1)</sup> Vermehrung seiner Körperchen betont und von einem intrazellulären Entwicklungsgang nichts wissen will. Ich glaube, daß man durch richtige Vereinigung dieser beiden Anschauungen den Kern der Sache treffen wird. Paschens Ansicht, daß seine Körperchen sich in der Pockenpustel außerhalb der Zellen vermehren, ist ganz unbestreitbar richtig. Wie wären sonst die vielen Teilungsformen zu erklären, die sich frei im Pustelinhalt finden? Andererseits kann das intrazelluläre Vorkommen Paschenscher Körperchen nicht in Abrede gestellt werden, denn die v. Prowazekschen intrazellulären Elementarkörperchen zeigen, was Größe, Form, Lagerung und Färbung betrifft, eine solche Uebereinstimmung mit den extrazellulären Paschenschen Körperchen, daß ihre Identität wohl angenommen werden darf. Dabei ist jedoch auffallend, daß man unter den intrazellulären Elementarkörperchen nur selten hantelförmige Teilungsformen sieht. Worauf diese Erscheinung beruht, läßt sich vielleicht durch den gleich zu erörternden intrazellulären Entwicklungsgang erklären. Für die von v. Prowazek-Yamamoto angenommene Zusammengehörigkeit der Initialkörperchen und der Elementarkörperchen und damit auch der Paschenschen Körperchen sind, abgesehen davon, daß man sie in jedem Präparat demonstrieren kann, noch gewisse Anhaltspunkte vorhanden, die mehr entwicklungsgeschichtlicher Natur sind. Die Vermehrung des Pockenvirus geht wahrscheinlich in zweifacher Art vor sich, und man kann wohl von einer selten intrazellulär, meist extrazellulär, sich vollziehenden direkten Teilung und einem nur intrazellulär vor sich gehenden Entwicklungsgang reden. Dabei muß jedoch ausdrücklich betont werden, daß für die Annahme einer ungeschlechtlichen und einer geschlechtlichen Vermehrung wie bei den Protozoen jegliche Grundlagen fehlen. Die extrazelluläre Vermehrung des Pockenvirus geht in der Weise vor sich, daß sich die Paschenschen Körperchen im flüssigen Pustelinhalt durch eine mit hantelförmiger Einschnürung einher-

1) Anm. bei der Korrektur: In einer letzten Arbeit (Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 24) äußert sich Paschen dahin, daß die freien Elementarkörperchen zum Teil aus spontan platzenden, zum Teil aus durch die Ausstriche verletzten Epithelien ausgetreten sind, womit doch wohl gesagt sein soll, daß die Vermehrung intrazellulär erfolgt.

gehende Zweiteilung unendlich vermehren. Die in die Epithelzellen eingedrungenen Paschenschen Körperchen teilen sich, wie ich schon erwähnte, scheinbar nur selten direkt, die meisten machen in ihrer Wirtszelle einen recht einfachen, von der direkten Teilung jedoch zu trennenden Entwicklungsgang durch, indem sie zunächst zu den größeren runden Initialkörperchen heranwachsen. Aus diesen Initialkörperchen entstehen neue junge Formen und zwar, wie ich annehmen möchte, nicht durch Teilung, sondern durch Knospung; das zuerst kreisrunde Initialkörperchen streckt sich etwas elliptisch oder kurzoval und geht durch die bekannte durch Knospung bedingte Hantelform mit 2 ungleichgroßen Kugeln oder die Form eines Ausrufungszeichens in den ungleichmäßigen Doppelpunkt über. Mit diesem sichtbaren Endprodukt ist die Entwicklung eines jungen Tochterkörperchens vollendet, und das Initialkörperchen ist nach Abstoßung des jungen Körperchens zu seiner kreisrunden Form und früheren Größe zurückgekehrt. Wie oft die Abstoßung von Tochterkörperchen vor sich gehen kann, läßt sich mit Bestimmtheit nicht sagen; daß es mehr als einmal geschieht, läßt sich aus der gewöhnlichen Mehrzahl von Elementarkörperchen in der nächsten Nähe der Initialkörperchen schließen. Das am Ende der Vermehrungsfähigkeit übrig bleibende Initialkörperchen ist dem bei der Vermehrung anderer in dieselbe Gruppe gehöriger Mikroorganismen übrig bleibenden Restkörper gleichzustellen. Ob die von den Initialkörperchen abgesproßten Tochterformen, die Elementarkörperchen, in der Zelle selbst zwecks weiterer Vermehrung wieder zu Initialkörperchen heranwachsen, ob sie völlig den vegetativen Paschenschen Körperchen gleichzustellen sind, oder ob sie sporenähnliche Dauerformen sind, darüber möchte ich mich heute noch nicht auslassen, da eine sichere Entscheidung über diese Fragen bei der Kleinheit der Gebilde mit Hilfe der zur Verfügung stehenden Untersuchungsmittel vorläufig ausgeschlossen ist. Das Vorkommen von Initialkörperchen innerhalb des Zellkernes kann mit wenigen Worten abgetan werden. Daß Initialkörperchen innerhalb des Kernes liegen können, beweisen die intranukleären Guarnierischen Körperchen; ihre sichere Erkennung ist nur möglich, wenn sie in gut differenzierten Guarnierischen Körperchen liegen; für einen besonderen Entwicklungsgang innerhalb des Kernes, wie ihn Bosc und Calkins annahmen, fehlen jegliche Anhaltspunkte. Auf den von v. Prowazek und anderen Autoren angenommenen Entwicklungsgang des Pockenvirus innerhalb der Guarnierischen Körperchen werde ich später zu sprechen kommen; vorausgreifend will ich hier nur bemerken, daß meines Erachtens die Guarnierischen Körperchen mit dem intrazellulären Entwicklungsgang des Pockenvirus nicht das Mindeste zu tun haben, sondern daß lediglich ein ursächlicher Zusammenhang zwischen Pockenvirus und Guarnierischen Körperchen insofern besteht, als die Guarnierischen Körperchen Reaktions- und Abwehrprodukte der befallenen Zellen sind. Der diagnostische Wert der als spezifisch für den Variolavaccineprozeß geltenden Guarnierischen Körperchen und das wissenschaftliche Interesse, das sie beanspruchen dürfen, stehen jedoch außer Frage, und ihre Entstehung und Entwicklung, die in hervorragender Weise an der geimpften Kaninchencornea verfolgt werden kann, soll daher nicht übergangen werden.

Die vom Pockenvirus befallenen Corneaepithelzellen müssen auf das Eindringen des Virus sofort mit der Produktion von Reaktions-

stoffen antworten, denn es finden sich bereits 2 Stunden nach der Impfung, wenn noch keine oder nur vereinzelte Pockenkörperchen in den Zellen liegen, Reaktionsprodukte in Gestalt rötlicher bis blauroter Tropfen oder Flocken in der Nachbarschaft der eingedrungenen Erreger, die als die ersten Anfänge der Guarnierischen Körperchen anzusehen sind. Nach 6 Stunden sind einzelne Pockenkörperchen von einer homogenen rötlichen Substanz (Chromatin) eingeschlossen, an deren Peripherie sich bereits körnige blaue Massen (Plastin) anzulagern beginnen. Voll ausgebildete Guarnierische Körperchen, wie eins in Fig. 32, Taf. II zur Darstellung gekommen ist, sind nach 12 Stunden vorhanden. In späteren Stunden finden sich Guarnierische Körperchen in allen möglichen Entwicklungsstadien und manchmal in den aller bizarrsten Formen. In manchen Zellen liegt nur 1 riesiges Guarnierisches Körperchen (Textfig. 6), das fast das gesamte Cytoplasma einnimmt, den Kern eingebuchtet und an die Zellwand gedrückt hat, in anderen Zellen ist es zur Bildung von mehreren — ich habe bis 11 gezählt — kleineren Guarnierischen Körperchen gekommen. Im Gegensatz zu den Epithelien der Pockenpustel sind in den Corneaepithelien an den gut ausgebildeten Guarnierischen Körperchen



Fig. 6. Kaninchencorneazelle aus Klatschpräparat 48 Stunden nach der Impfung mit riesigem Guarnierischen Körperchen, das den Kern auseinandergerissen und die Bruchstücke an die Wand gedrängt hat. Färbung: Giemsa, Vergr. 1:1500.

fast stets seine beiden Komponenten, das zentrale transparente Chromatin und die peripheren körnigen oder flockigen Plastinmassen, erkennbar; nur ausnahmsweise fehlt die Plastinkomponente. Zentrale Einschlüsse, die als Pockenkörperchen anzusehen sind, und die man nur bei guter Differenzierung erkennen kann, hat nicht jedes Guarnierische Körperchen. Die beiden Komponenten der Guarnierischen Körperchen, das Chromatin und das Plastin, sind Stoffe, die das normale Cytoplasma in feinsten Verteilung enthält; eine Rolle bei der Bildung der Guarnierischen Körperchen spielen in der Kaninchencornea wohl auch die in deren

Epithelien nachgewiesenen Chromidien. Wie weit sich der Kern an der Bildung der im Cytoplasma liegenden Guarnierischen Körperchen beteiligt, darüber sind die Meinungen noch sehr geteilt. Daß Bilder vorkommen, die an eine Beteiligung des Kernes denken lassen, zeigen die Figg. 30 u. 34, Taf. II, in denen doch scheinbar Kernsubstanzen aus den Kernen austreten. Auf das Auftreten der Guarnierischen Körperchen innerhalb des Kernes ist bereits hingewiesen. Bei stärkerer Differenzierung sieht man zuweilen innerhalb größerer Guarnierischer Körperchen tief dunkel gefärbte Klumpen in allen möglichen Größen, die sich von miteingeschlossenen, rot gefärbten Pockenkörperchen leicht unterscheiden lassen; vielleicht handelt es sich um Chromidien.

Im Gegensatz zu der nur wenige Guarnierische Körperchen aufweisenden Pockenpustel, ist in der Kaninchencornea 48 Stunden nach der Impfung fast jede Epithelzelle in der Umgebung der Impfstelle mit Guarnierischen Körperchen besetzt. Woher kommt das? Ich glaube, nicht zu irren, wenn ich die Ursache darin suche, daß die Epithelien der Kaninchencornea ganz anders auf das Eindringen des Virus reagieren

als die menschlichen Hautepithelien. Die chromidienhaltige Epithelzelle der Kaninchencornea ballt ihre Reaktions- und Abwehrstoffe in ausgesprochenem Maße zusammen und schützt sich so gegen eine übermäßige Entwicklung des Virus innerhalb der Zelle und gegen ihren schließlichen Untergang. So sehen wir wohl als Impferfolg an der Kaninchencornea eine vorübergehende Proliferation der Epithelien um die Impfstelle mit Bildung vieler Guarnierischer Körperchen, jedoch weder Pustelbildung, noch allzu starke Vermehrung des Virus. Die menschlichen Hautepithelien sind nicht fähig, Reaktions- und Abwehrstoffe in dem gleichen Maße zu produzieren, und der Erfolg der Infektion ist der Untergang zahlreicher Epithelien, die Bildung der Pockenpustel und in dieser exzessive Vermehrung des Virus. Es stehen sich demnach gegenüber: viel Guarnierische Körperchen in der Kaninchencornea ohne wesentlichen Epitheluntergang und ohne starke Vermehrung des Virus, und sehr wenig Guarnierische Körperchen in der Pockenpustel bei starker Epithelzerstörung und exzessiver Vermehrung des Virus. Wie verträgt sich diese Tatsache mit der Annahme, daß die Guarnierischen Körperchen beim intrazellulären Entwicklungsgang des Pockenvirus eine wichtige Rolle spielen? Ist es logisch richtig, wenn v. Prowazek die Guarnierischen Körperchen einerseits als Reaktions- und Abwehrstoffe der Zelle bezeichnet, ja die Produktion der Guarnierischen Körperchen in innigsten Zusammenhang mit dem Auftreten der Immunität in der Kaninchencornea bringt, das Pockenvirus aber ruhig seine Entwicklung innerhalb der Abwehrprodukte durchmachen läßt? Gerade das Gegenteil dürfte der Fall sein; die Reaktions- und Abwehrstoffe ballen sich um die in die Zelle eingedrungenen Pockenkörperchen zusammen, um sie unschädlich zu machen, und das von Guarnierischen Körperchen eingeschlossene Virus büßt nicht nur seine Vermehrungsfähigkeit ein, sondern es geht wahrscheinlich auch innerhalb der Guarnierischen Körperchen zugrunde. Für diese Annahme sprechen folgende Tatsachen: Innerhalb der Guarnierischen Körperchen trifft man wohl einzelne runde bis hantelförmige, also höchstens in Knospung begriffene Initialkörperchen, jedoch fast nie die die Beendigung der Knospung anzeigenden Doppelpunktformen an; die von Guarnierischen Körperchen eingeschlossenen Pockenkörperchen erscheinen trotz gleicher Differenzierung nicht so distinkt gefärbt wie die frei im Cytoplasma liegenden, d. h. sie haben wie jeder abgestorbene Eiweißkörper die Farbe schlecht angenommen; je später man nach der Impfung untersucht, um so größer ist die Zahl der Guarnierischen Körperchen, die überhaupt keine Einschlüsse mehr enthalten; schließlich lösen sich die Guarnierischen Körperchen, nachdem sie ihre Aufgabe, die Unschädlichmachung des Virus, erfüllt haben, auf, und man kann 2—3 Wochen nach der Impfung keine Spur mehr von ihnen entdecken. Die Tatsache, daß man auch Anfangsstadien von Guarnierischen Körperchen frei von Einschlüssen findet, läßt die von früheren Untersuchern geäußerte Annahme, daß die Guarnierischen Körperchen Einschlüsse enthalten können, aber durchaus nicht müssen, und daß vielleicht schon die vom Pockenvirus produzierten Gifte genügen, um das Zellplasma zur Reaktion anzuregen, als völlig zutreffend erscheinen. Wenn v. Prowazek es als bemerkenswert bezeichnet, daß ein Teil der Initialkörperchen nicht zur Bildung von Guarnierischen Körperchen fähig ist, so möchte ich ergänzend hinzufügen, daß die in die Zelle eingedrungenen Erreger wohl samt und

sonders in der Lage sind, die Bildung von Guarnierischen Körperchen zu veranlassen; bleibt die Produktion der die Guarnierischen Körperchen bildenden Reaktions- und Abwehrstoffe aus, so ist die Ursache dafür nur in der Zelle selbst zu suchen. Entweder die Reaktionsfähigkeit des Zellplasmas ist erschöpft, oder sie ist, wie es beim menschlichen Hautepithel der Fall zu sein scheint, nicht oder nur in geringem Maße vorhanden. Ich glaube, somit zur Beantwortung der Frage gelangt zu sein, warum die Pockenpustel so arm an Guarnierischen Körperchen ist, und warum auch die an und für sich so sehr reaktionsfähigen Epithelzellen der Kaninchencornea insofern Unterschiede zeigen, als in manchen Zellen die Bildung von Guarnierischen Körperchen ausbleibt oder nur ganz rudimentär ist, trotzdem im Zellplasma eine ganze Anzahl von Pockenkörperchen liegt, während andere Zellen auf das Eindringen nur weniger Erreger durch übermäßige Produktion Guarnierischer Körperchen reagieren; es ist die verschiedene Reaktionsfähigkeit der einzelnen Zellen. Nimmt man als richtig an, daß das in die Epithelzellen eingedrungene Pockenvirus die Bildung von Guarnierischen Körperchen nicht auslöst, um darin einen Entwicklungsgang durchzumachen, sondern daß die Zelle die Guarnierischen Körperchen als Reaktions- und Abwehrstoffe produziert, um sich gegen den schädigenden Einfluß des eingedrungenen Virus zu schützen, und erinnert man sich dazu der Tatsache, daß in dem natürlichen Substrat des Pockenvirus, der menschlichen Haut, im Gegensatz zur künstlich infizierten Kaninchencornea die Guarnierischen Körperchen, die Mäntel des Pockenvirus, nur in ganz geringem Maße gebildet werden, dann kann man den von v. Prowazek vorgeschlagenen Namen *Chlamydozoon* (Manteltier) für den Pockenerreger nicht als richtig anerkennen. Auf die Stellung des Pockenvirus im System will ich nur mit wenigen Worten eingehen. Wir haben gesehen, daß die Pockenkörperchen sich in doppelter Weise vermehren, und daß ihr intrazellulärer Entwicklungsgang zwar sehr einfach ist, immerhin aber Aehnlichkeiten mit dem mancher Protozoen zeigt. Einzig auf Grund dieses Entwicklungsganges die ganze Gruppe der Mikroorganismen, zu der der Pockenerreger gehört, zu den Protozoen zu rechnen, ist nicht angängig. Protozoen können diese winzigen kernlosen Mikroorganismen nicht sein, da ihrem Körper jegliche Differenzierung, wie sie auch das niederste Protozoon besitzt, völlig fehlt; und obwohl die Pockenerreger wiederum im Aussehen die Eigenschaften der Bakterien besitzen, kann man sie, wenn sie auch zweifellos den Bakterien näher stehen als den Protozoen, auch nicht den Bakterien zurechnen, da man einen intrazellulären Entwicklungsgang, wie ihn das Pockenvirus durchmacht, sowie die Teilung durch hantelförmige Einschnürung, die auf das Fehlen einer Membran hinweist, bis jetzt bei Bakterien noch nicht kennt; zudem können sie durch die gewöhnlichen Bakterienfärbungen nicht zur Darstellung gebracht werden. Ich glaube daher, daß die revidierte Ansicht v. Prowazeks, nach der die ganze Gruppe der filtrierbaren Mikroorganismen ein besonderes zwischen Protozoen und Bakterien zu stellendes System, das mit den Moneren identisch wäre, bildet, bis auf weiteres annehmbar ist. Den von Lipschütz für die Gruppe der filtrierbaren Mikroorganismen vorgeschlagenen Namen *Strongyloplasmen*, durch den zum Ausdruck gebracht wird, daß kleinste, runde Protoplasmakügelchen den Grundtypus dieser Mikroorganismen darstellen, halte ich aus den be-



reits erwähnten Gründen für geeigneter und weniger irreführend als die v. Prowazeksche Bezeichnung Chlamydozoen. Der Erreger der Pocken würde demnach *Strongyloplasma variolae* zu nennen sein.

Mit der Erörterung der ätiologischen Bedeutung der als Pockenerreger beschriebenen Gebilde bin ich zum Schluß meiner Abhandlung gelangt. Die meisten Autoren, die sich mit dem Studium des Pockenvirus beschäftigt haben, stimmen darin überein, daß die im Pustelinhalt nachzuweisenden Paschenschen Körperchen als Pockenerreger anzusehen sind, da sie in echten Pockenpusteln regelmäßig vorkommen, während sie in Windpocken und allen anderen mit Blasenbildung einhergehenden Hauterkrankungen fehlen, und da sie sich bei allen Uebertragungsversuchen auf Tiere stets wiederfinden; auch soll nochmals darauf hingewiesen werden, daß die Paschenschen Pockenkörperchen häufig in den Pockenpusteln in ungeheurer Menge (Textfig. 1) und fast in Reinkultur vorhanden sind. Eine wertvolle Stütze für die ätiologische Bedeutung der Paschenschen Körperchen bieten die Filtrationsversuche. Mit dem durch ein Bakterienfilter geschickten Pockenpustelinhalt, in dem man mikroskopisch nur Paschensche Pockenkörperchen findet, kann man durch Impfung der Kaninchencornea ebenso ein positives Impfresultat erzielen wie mit dem primären Pustelinhalt. Läßt man den filtrierte Pustelinhalt nochmals durch ein Kolloidfilter hindurchgehen, dann ist das zweite Filtrat mikroskopisch frei von Pockenkörperchen, und Kaninchencorneaimpfungen fallen stets negativ aus. Der Erreger hat sich daher im ersten Filtrat noch befunden, ist aber durch das Kolloidfilter nicht hindurchgegangen, und da die winzigen, im ersten Filtrat mikroskopisch nachweisbaren Organismen die Paschenschen Körperchen sind, so kann die Erregernatur dieser Körperchen kaum bezweifelt werden. Ich selbst habe diese Filtrationsversuche 6mal angestellt, weitere mußte ich mir Zeit- und Tiermangels wegen versagen, und bin jedesmal zu denselben Resultaten gelangt. Zweifel an der ätiologischen Bedeutung der Paschenschen Körperchen sind gerade in der letzten Zeit wieder laut geworden; es würde zu weit führen, auf alle einzugehen, und ich will deshalb nur kurz auf Huntzmüllers Ausführungen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. S. 1) antworten. H.s Ansicht, daß die Paschenschen Körperchen von Kolloidgranulis gar nicht zu unterscheiden wären, kann ich nicht ohne weiteres beipflichten. Gewiß besteht eine große Aehnlichkeit, und wenn sich Kolloidgranula in Pockenpustelausstrichen in größerer Menge finden, so können sie so störend wirken, daß solche nach Loeffler gefärbte Präparate völlig unbrauchbar sind. Hat sich das Auge jedoch an geeigneten Präparaten an den Anblick der bei gut gelungener Färbung leuchtend roten, distinkten Paschenschen Körperchen gewöhnt, so wird auch in weniger geeigneten Präparaten die Unterscheidung gegen die matter gefärbten opaken Kolloidgranula gelingen. Der färbberische Unterschied zwischen Kolloidgranulis und Paschenschen Körperchen tritt an Ausstrichen, die nach Entfernung des Serums mit Sublimatalkohol fixiert und nach Giemsa gefärbt sind, noch deutlicher hervor. In dem durch Agarfiltration von Paschenschen Körperchen befreiten Pockenpustelinhalt fand ich den Paschenschen Körperchen ähnliche Gebilde auch nach längerem Stehenlassen<sup>1)</sup> des Filtrates nicht

1) Anm. bei der Korrektur: (6 Monate).



wieder, und die hätten sich doch, wenn es sich um Kolloidgranula gehandelt hätte, nach Huntemüllers Theorie wieder bilden müssen. Geübte Mikroskopiker, denen ich wohlgelungene Präparate von Paschenschen Körperchen vorlegte, sprachen sich für Mikroorganismen aus und bezeichneten sie als kleinste „Diplokokken“. Ich stimme mit Huntemüller überein, daß der endgültige Beweis für die Erregernatur der Paschenschen Körperchen, die einwandfrei gelungene Kultur, noch aussteht, die Wahrscheinlichkeit, daß diese Körperchen die Pockenerreger sind, ist aber sicher recht groß.

Ein Beweis für die ätiologische Bedeutung der intrazellulären Initial- und Elementarkörperchen läßt sich aus begreiflichen Gründen noch schwerer erbringen. Hier kann man sich nur auf das ganz regelmäßige Vorkommen der Körperchen in den Epithelzellen der Pockenpusteln und auf ihr regelmäßiges Wiederauftreten in den Zellen der mit Pustelinhalt experimentell erzeugten Impfeffloreszenzen stützen, sowie auf ihr gleichmäßiges und distinktes Aussehen, das die Pockenkörperchen bei richtiger Konservierung und Färbung der sie bergenden Zellen von Zellgranulationen, Reaktions- und Kunstprodukten unterscheiden läßt.

Leider fehlt das Schlußglied in der Beweiskette für die Erregernatur der beschriebenen Pockenkörperchen noch, die Reinkultur und die Erzeugung von Pockeneffloreszenzen mit Kulturstrongyloplasmen. Zwar berichtet Fornet 1913, daß ihm die Kultur der Paschenschen Körperchen, die er *Mikrosoma variolae* nennt, in Rinderserumbouillon gelungen sei, doch bedarf es noch eines völlig überzeugenden Beweises, zumal bei den von verschiedenen Untersuchern angestellten Nachprüfungen F.s Befunde nicht bestätigt werden konnten; die ganz ungleich großen Gebilde, von denen F. Mikrophotogramme gibt, sind sicher keine Paschenschen Körperchen. Die Zuchtungsversuche Proeschers bedürfen noch weiterer Nachprüfung. Gins hatte bei seinen Kulturversuchen nur negative Resultate zu verzeichnen, dagegen gelang es ihm, Stückchen von geimpfter Kaninchencornea in der Carell-Kultur zur Zellneubildung zu bringen unter gleichzeitiger Bildung von Garnierischen Körperchen in den jungen Zellen; obwohl Impfungen mit den Corneastückchen aus der Carell-Kultur positiv ausfielen, sieht sich Gins zu der ausdrücklichen Erklärung veranlaßt, daß keine Kultivierung, sondern nur eine Konservierung des Virus vorliege. Da das Interesse an den Pocken durch die Einschleppung dieser in Deutschland fast unbekannt gewordenen Seuche wieder erwacht ist, werden uns die doch sicher überall vorgenommenen Untersuchungen vielleicht auch die gelungene Kultur des Pockenvirus und damit die endgültige Klärung dieser Frage bescheren.

Ich will nicht versäumen, Herrn Geh.-Rat Prof. Dr. Hoppe Seyler für die gütigst erteilte Erlaubnis, jederzeit bei seinen Kranken Untersuchungsmaterial entnehmen zu dürfen, und Herrn Prosektor Dr. Emmerich für den lebenswürdigerweise zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz auch an dieser Stelle verbindlichst zu danken.

Abgeschlossen Ende März 1917.

**Literatur.**

Die einschlägige Literatur ist zu finden in v. Prowazek, Handb. d. pathog. Protozoen u. in Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism.

Später sind erschienen:

- 1) v. Prowazek u. Miyaji, Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75.)
  - 2) Fornet, Die Reinkultur des Pockenerregers. (Berlin. klin. Wochenschr. 1913.)
  - 3) Proescher, Künstliche Kultivierung des Variolavaccinevirus. (Berlin. klin. Wochenschrift. 1915.)
  - 4) Gins, Ueber experimentelle Vaccine und Vaccineimmunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 82.)
  - 5) Huntmüller, Filtrierbare Virusarten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79.)
- Siehe auch die Protokolle über die Sitzungen des Aerztlichen Vereins in Hamburg im Februar und März 1917 (Paschen, Fahr, Fraenkel).

**Erklärung der Tafeln.**

Die Zellen sind bei 1500-facher Vergrößerung gezeichnet und entsprechen, wie vergleichende Messungen mit Mikrophotographien gezeigt haben, ziemlich genau dieser Vergrößerung.

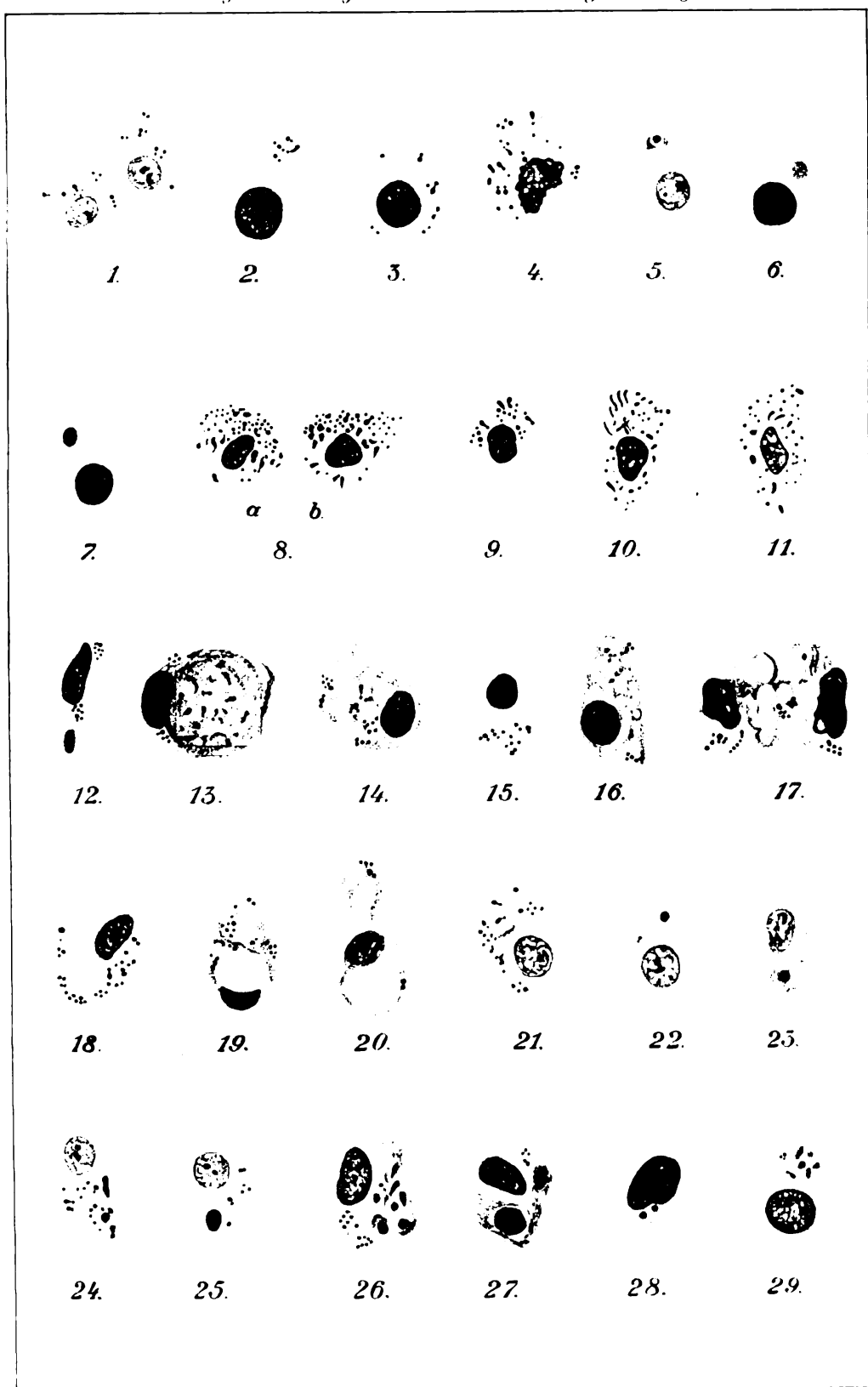
**Tafel I.**

- Fig. 1. Epithelzellen aus einem Pockenpustelschnitt, die nur typische Pockenkörperchen ohne alle Reaktionsprodukte enthalten.
- „ 2. Epithelzelle aus einem Pustelausstrich nur mit Pockenkörperchen.
- „ 3 u. 4. Epithelzellen aus Pustelausstrichen, die in der Umgebung der Pockenkörperchen leichte Plastinausflockung zeigen; das Plastin hat die nächste Umgebung der Pockenkörperchen freigelassen, so daß ein heller Hof entstanden ist.
- „ 5. Epithelzelle aus einem Pustelschnitt mit einem kleinen Guarnierischen Körperchen, das beide Komponenten, das zentrale Chromatin und das periphere Plastin, aufweist; das Zellplasma ist frei von Pockenkörperchen. Die hellen Höfe um den Kern und um das Chromatin des Guarnierischen Körperchens sind Kunstprodukte.
- „ 6 u. 7. Epithelzellen aus Pustelausstrichen mit ganz rudimentären, Guarnierischen Körperchen und ohne alle Pockenkörperchen.
- „ 8. Epithelzellen aus einem Pustelschnitt, die neben Pockenkörperchen Flocken enthalten, die bei schlechter Differenzierung zu Verwechslungen Veranlassung geben können. Ob die Plastinflocken Reaktions- oder Schrumpfungsprodukte sind, läßt sich nicht entscheiden.
- „ 9. Epithelzelle aus der Nachbarschaft des vorherigen, jedoch nur mit Pockenkörperchen.
- „ 10 u. 11. Zellen aus den oberen Epithellagen einer Pockenpustel (Schnitt), die nur Plastinflocken und Granula enthalten. Abgrenzung gegen Pockenkörperchen nur bei bester Differenzierung, häufig überhaupt nicht möglich.
- „ 12. Basalzelle aus einem Pustelschnitt mit einem nackten Guarnierischen Körperchen, daneben Pockenkörperchen.
- „ 13. Epithelzelle aus Pustelausstrich, deren Plasma eine eigenartige Reaktion aufweist, indem es sich in toto dunkelviolettfärbt. Der abgeplattete und an die Zellwand gedrängte Kern läßt vermuten, daß es sich um ein großes, jedoch ganz lockeres Guarnierisches Körperchen handelt.
- „ 14, 15 u. 16. Epithelzellen in retikulärer Kolliquation, 14 u. 16 aus Ausstrichen, 15 aus einem Schnitt.
- „ 17. Große, zweikernige Epithelzelle aus einem Ausstrich in retikulärer Kolliquation.

- Fig. 18, 19 u. 20. Epithelzellen in ballonierender Kolliquation, 18 u. 19 aus Schnitten, 20 aus einem Ausstrich.
- „ 21–27. Epithelzellen aus Schnitten geimpfter Kaninchenhornhäute 48 Stunden nach der Impfung. Die hellen Höfe um Kerne etc. sind Kunstprodukte.
21. Im Zellplasma neben Pockenkörperchen nur Plastinflocken als Reaktionsprodukte.
- 22 u. 23. Typische, junge Guarnierische Körperchen, nur in 22 noch ein Initialkörperchen.
24. Neben Pockenkörperchen, die von Plastinflocken umgeben sind, 2 kleine Guarnierische Körperchen.
25. Ein mittelgroßes Guarnierisches Körperchen mit beiden Komponenten, daneben freie Pockenkörperchen.
26. 7 kleine Guarnierische Körperchen und freie Pockenkörperchen.
27. Neben einem großen und kleinen Guarnierischen Körperchen einige freie Pockenkörperchen.
- „ 28–48. Epithelzellen von geimpften Kaninchenhornhäuten aus Klatschpräparaten.
- „ 28 u. 29. 2 Stunden nach der Impfung; bei 28 im Zellplasma nur 2 Chromatintropfen, bei 29 neben einigen Chromatintropfen 1 Initial- und 3 Elementarkörperchen.

## Tafel II.

- Fig. 30. 3 Stunden nach der Impfung; in der Nähe der eingedrungenen Pockenkörperchen ein Chromatinhauch; im Kernrand ein Gebilde vom Aussehen eines austretenden Kernkörperchens.
- „ 31. 6 Stunden nach der Impfung; um und neben den eingedrungenen Pockenkörperchen Reaktionsstoffe in Gestalt von Chromatin und Plastin.
- „ 32. 12 Stunden nach der Impfung; ausgebildetes typisches Guarnierisches Körperchen; in seinem Plastin ein einsames Initialkörperchen.
- „ 33. 24 Stunden nach der Impfung; um die zahlreichen Pockenkörperchen nur einige Plastinflocken.
- „ 34. 24 Stunden nach der Impfung; als Reaktionsprodukte sind nur mehrere ganz zarte Chromatinballen vorhanden; ein Chromatinballen sich scheinbar vom Kern lösend.
- „ 35–48. 48–72 Stunden nach der Impfung.
- „ 35a. Zwischen den als Reaktionsprodukte anzusehenden Plastinflocken einige Pockenkörperchen.
- „ 35b. Das Zellplasma gesteckt voll Initial- und Elementarkörperchen, dazwischen nur einige winzige Plastinflockchen.
- „ 36. Im Zellplasma neben einigen typischen Pockenkörperchen größere, von einem hellen Hof umgebene Gebilde, deren Deutung nicht gelang; vielleicht handelt es sich um kleine Guarnierische Körperchen. Eine Verwechslung mit Pockenkörperchen läßt die Größe nicht zu. Die hellen Höfe sind höchstwahrscheinlich Kunstprodukte.
- „ 37. Großes Guarnierisches Körperchen mit Initialkörperchen als Einschlüssen.
- „ 38. Eigenartige Anordnung des Chromatins in einem Guarnierischen Körperchen mit Einschlüssen.
- „ 39. Guarnierische Körperchen mit wenig Chromatin, aber um so mehr Plastin.
- „ 40. Blasses Guarnierisches Körperchen mit 8 Elementarkörperchen und 3 Plastinflocken im Innern, daneben ein kleines, dunkles, nacktes Guarnierisches Körperchen.
- „ 41. Im Zellplasma 3 blasse Guarnierische Körperchen ohne Einschlüsse, im Kern ein blasses Guarnierisches Körperchen mit einem Initialkörperchen als Einschluß.
- „ 42. Zelle mit 11 Guarnierischen Körperchen in verschiedener Größe, in einigen sind deutlich Einschlüsse erkennbar; im Zellplasma noch eine ganze Anzahl freier Pockenkörperchen.
- „ 43. Riesiges Guarnierisches Körperchen, das den Kern auseinandergerissen und die beiden Bruchstücke an die Zellwand gedrückt hat.

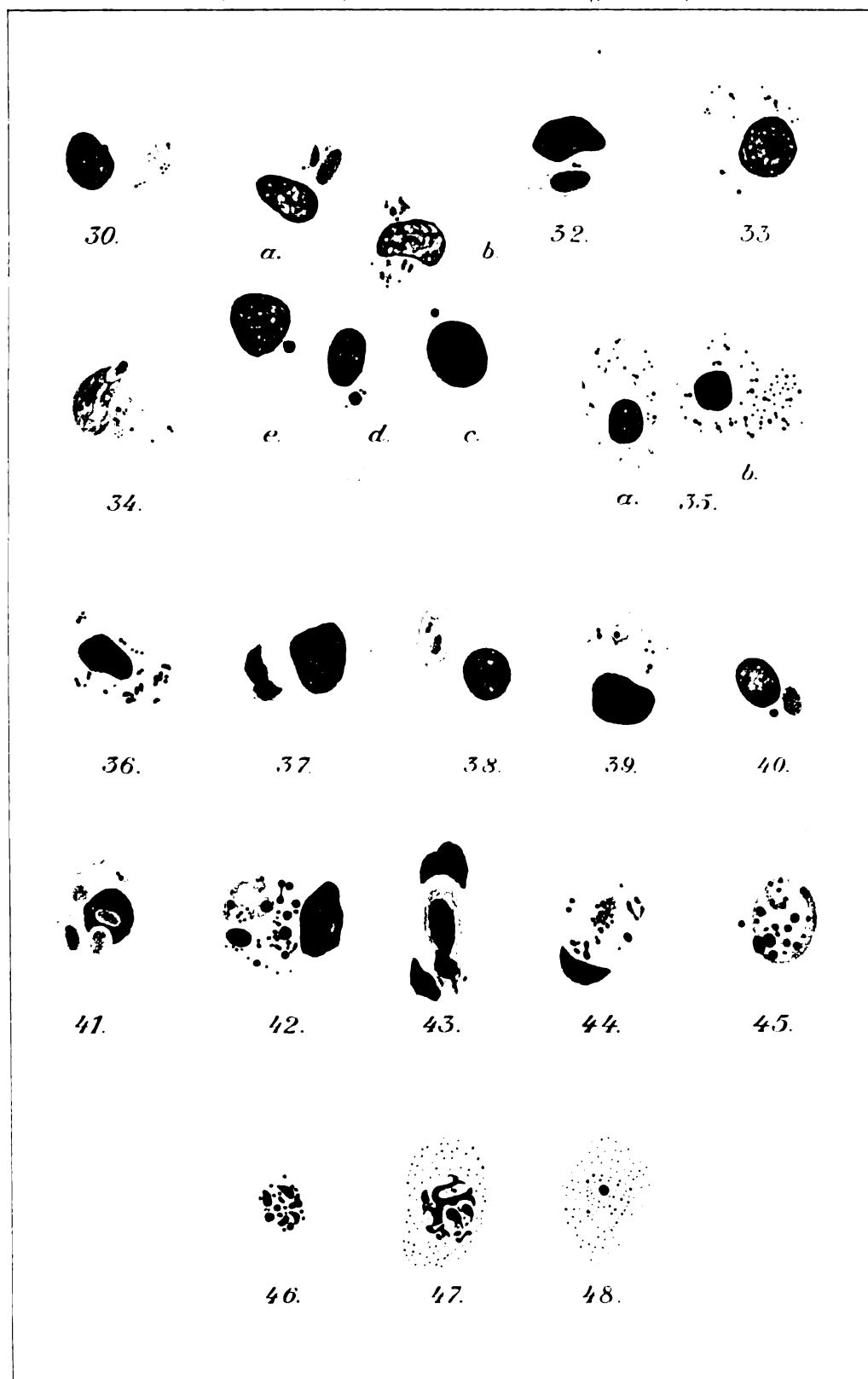


Dr. Hallenberger, gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. A. Giltisch, Jena.





Dr. Hallenberger, gen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. A. Gilsch, Jena.





- Fig. 44. Guarnierisches Körperchen, das neben einigen typischen Pockenkörperchen im Chromatin und Platin größere, dunkel gefärbte Ballen enthält, deren Natur unklar ist. Chromatinballen oder Chromidien?
- „ 45. Wie vorher bei 3000-facher Vergrößerung, aber aus einer anderen Zelle; es ist nur das Guarnierische Körperchen dargestellt.
- „ 46—48. Zellen mit zerfallenden Kernen in 3 verschiedenen Stadien; die Kerntrümmer haben größte Ähnlichkeit mit Pockenkörperchen; nur ihre verschiedene Größe und das Fehlen jeglicher Reaktionsprodukte im Zellplasma lassen eine Verwechslung nicht zu. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Färbetechnik der Malariaparasiten.

[Aus dem Malarialaboratorium No. 12 in Sarajevo.]

Von Oberarzt Dr. Leo Appel.

Mit 2 Figuren im Text.

Der mikroskopische Nachweis der Malariaparasiten im Blute ist bis heute noch der einzige Weg, eine Malariaerkrankung sicherzustellen. Auf Grund der klinischen Erscheinungen läßt sich immer nur eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose stellen, und wir pflegen selbst dann, auf den mikroskopischen Befund zu warten, wenn die klinischen Erscheinungen besonders der Fiebertypus, einwandfrei für die Erkrankung sprechen, Ja, man ist heute durch die bakteriologischen Untersuchungen so verwöhnt, daß der Arzt ohne Laboratoriumsbefund gar nicht wagt, eine Diagnose zu stellen. Es gilt somit, die mikroskopische Technik, besonders im Laboratorium, derart auszugestalten, um in möglichst kurzer Zeit bei geringen Kosten und Arbeitsaufwand einwandfreie Resultate abzugeben.

Da die hier im Laboratorium geübte Technik der Blutuntersuchung auf Malaria von der sonst üblichen in vielem abweicht, will ich diese hier in kurzen Zügen wiedergeben. Das Blut entnehme ich nach der allgemein üblichen Methode aus der mit Benzin gereinigten Fingerkuppe, bei einzelnen Untersuchungen mittels Schnäppers, bei vielen Blutabnahmen, der Einfachheit halber, mit einer Nadel für Rekordspritzen mit Platiniridiumspitze. Den dünnen Nadeln gebe ich vor Stechlanzetten den Vorzug, da jeder Stich dieselbe Blutmenge liefert, was für das tadel-

lose Gelingen von Ausstrichen von großer Wichtigkeit ist. Empfehlenswert ist es, besonders in den kalten Wintermonaten, das Blut auf vorher etwas erwärmte Objektträger zu streichen. Man erzielt damit durch das rasche Trocknen Bilder von großer Reinheit und natürlichster Form.

Was die Zeit der Blutentnahme anbelangt, so stellen sich die Aussichten auf positive Präparate am günstigsten an dem nach dem Fieberanfall folgenden Tage, und nicht, wie es fast allgemein die Auffassung ist, im Momente des Schüttelfrostes. Besonders die Malaria tropica bietet zur Zeit des Fiebers meistens einen negativen Blutbefund. In Malariaspitälern empfiehlt es sich, systematisch allen Patienten gleichzeitig, unabhängig vom Fieber, Blut zu entnehmen, da der größte Pro-



Fig. 1. Geöffnet.



Fig. 2. Geschlossen.

zentsatz der Malariakranken, auch im fieberfreien Intervall, Plasmodien im Blute hat.

Was die Färbung der Ausstriche anbelangt, so benutzen wir ausschließlich folgende Methode:

1) Fixieren in Methylalkohol 1—5 Minuten. Abtrocknen mit Fließpapier, oder lufttrocken werden lassen, oder am besten Abzentrifugieren des Alkohols auf der unten erwähnten Zentrifuge.

2) Färbung durch 15—20 Minuten in folgender Lösung: Aqua destillata 100, wässrige 1-proz. Methylenblaulösung Kochs von Grübler, 32 Tropfen (1,5 ccm); alkoholische 1-proz. Fuchsinlösung von Grübler 16 Tropfen (0,28 ccm).

3) Abzentrifugieren des Farbstoffes und Trocknen, oder Baden in einer 5-proz. Urotropinlösung, zur Fixierung des Farbstoffes; Abspülen mit Wasser und Trocknen.

Sowohl für die Fixierung als auch Färbung habe ich einen Aufsatz auf die Zentrifuge für 8 Präparate konstruiert (s. Abbildung), welcher

sich äußerst brauchbar erwiesen hat. Geschlossen, dient er zum Abzentrifugieren des überschüssigen Farbstoffes, geöffnet, zum raschen Trocknen der Präparate. Das umständliche und recht unsaubere Arbeiten mit Filtrierpapier, wobei man eine Verletzung und Verunreinigung der zarten Schicht nie vermeiden kann, entfällt hier ganz. Nach der angeführten Färbemethode färben sich die Erythrocyten und das Plasma der Leukocyten rosa, Kerne der Leukocyten und Malariaparasiten dunkelblau. Die Färbung gibt äußerst kontrastreiche und fein differenzierte Bilder, so daß mit Leichtigkeit auch die kleinsten Ringe aufzufinden sind. Ein Nachteil gegenüber der Giemsa-Methode haftet dieser Färbung an, und zwar in der Darstellung des Chromatins, welches sich vom Plasma in der Farbe durch einen Stich ins Graue nur wenig abhebt, aber durch die Struktur ganz deutlich zu unterscheiden ist. Indessen bietet die Methode den Vorteil der Einfachheit und Billigkeit und reicht für diagnostische Zwecke, besonders im Massenbetriebe, vollkommen aus. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Fragen der Paragglutination.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

Von Prof. Dr. Philalethes Kuhn.

### a) Ueber die Dauer der Paragglutination.

In der letzten Zeit sind einige Arbeiten über die Paragglutination von Bakterien erschienen, welche meine Angaben (1) über die Bedeutung der Paragglutination für die Diagnose des Typhus und der Ruhr bestätigen. Baerthlein (2) gibt interessante Beispiele, wie das Vorkommen paragglutinabler Stämme und ihre Verklebbarkeit im Krankenserum selbst, nicht nur in den Immunsera, bei Ruhr zur Auffindung der wirklichen Erreger führen kann. Sachs-Mücke (3) kommt zu dem Schluß, daß die Beobachtung paragglutinerender Stämme die denbar genaueste Durcharbeitung der Stuhlplatten bedingt, und daß die Ruhrdiagnose aus

solchen Untersuchungen praktischen Nutzen ziehen kann. Flatzek (4) unterstützt besonders meine Ausführungen über die Verwirrung, die dadurch in der bakteriologischen Diagnose eingetreten ist, daß manche Autoren paragglutinierende Stämme zu Erregern zu stempeln versucht haben.

In den beiden letzten Arbeiten ist jedoch eine irrtümliche Auffassung enthalten, über die ich mir einige Ausführungen erlauben muß. Sachs-Mücke glaubt, daß er außer „vergänglichen Bakterien“ im Sinne Kuhns, „dauernd hochagglutinierte Coli-Bakterien“ gefunden und nach der Methode von Kuhn und Ebeling (6) nicht nur „paragglutinable Stämme im Sinne Kuhns“, sondern auch „dauernd hoch in einem fremden Artserum agglutinierende Bakterien“ gezüchtet habe.

Flatzek sagt ebenfalls, daß „es neben den gewöhnlichen paragglutinierenden Coli-Bakterien im Sinne von Kuhn und Woithe (5), die durch Vergänglichkeit der Agglutinabilität gezeichnet sind, auch solche gibt, die dauernd agglutinabel bleiben“.

Gegenüber diesen Mitteilungen beider Autoren darf ich auf die Arbeit von Kuhn, Gildemeister und Woithe (7) hinweisen. Wir haben in dieser Arbeit (Mai 1910) folgendes ausgeführt:

„Das agglutinatorische Verhalten der Stämme ist nun aber nicht dauernd das gleiche. Die Agglutinierbarkeit geht bei häufiger Ueberimpfung der Kulturen allmählich, wenn auch bisweilen sehr langsam, zurück und schließlich (in einzelnen Fällen) ganz verloren. Man kann das leicht aus einer Gegenüberstellung der Titerziffern ersehen, wie sie kurz nach der Isolierung der Stämme aus menschlichen Ausscheidungen bzw. nach mehr oder weniger langer Fortzüchtung erhalten wurden:

Sieg-Coli frisch	20 000,	nach 5 Monaten	20 000,	nach 14 Monaten	1000
Li.	20 000,	13	300		
B.	1 000,	4	300		
El. I	5 000,	3	3 000		
„ II	5 000,	3	2 000		
„ III	5 000,	3	4 000		
Ke. III	5 000,	3	300		
„ V	1 000,	3	100		
Kl.	100,	3	0		
Kr.	1 000,	3	1 000		
M.	5 000,	3	2 000		
Ln.	8 000,	14 Tagen	3 000		
Go.	3 000,	4	1 000		

Der agglutinatorische Titer ist demnach bei einigen Stämmen ganz langsam (bei Sieg-Coli blieb er 5 Monate auf gleicher Höhe!), bei anderen schneller und bisweilen sogar außerordentlich rasch gesunken. Ganz ebenso wie die Coli-Stämme hat sich übrigens auch unser Stamm „Sieg-Coccus“ verhalten. Er wurde bei der Isolierung vor 14 Monaten noch in Verdünnung 1:3000 agglutiniert; seitdem haben wir ihn vielfach geprüft und dabei eine langsame Abnahme des Agglutinationswertes festgestellt (1000, 600), heute ist er bei 1:100 angekommen.“

Wir fügten dann in einer Anmerkung bei der Korrektur hinzu: „Bemerken müssen wir ferner, daß das agglutinatorische Verhalten unserer paragglutinierenden Coli-Stämme sich weiterhin geändert hat.

Ihre Agglutinierbarkeit ist weiterhin zurückgegangen; im Dezember 1910 konnte festgestellt werden, daß sie bei allen Stämmen ganz verloren gegangen war.“

Hieraus ist zu ersehen, daß wir niemals von einer Vergänglichkeit gesprochen haben, die grundsätzlich in wenigen Tagen eintritt. Im Gegenteil, wir haben von vornherein eine Reihe Stämme beobachtet, bei denen die Erscheinung recht hartnäckig war. Sowohl die Stämme von Sachs-Müke, wie die von Flatzek waren bei der Abfassung ihrer Arbeiten noch nicht lange genug beobachtet, um die Abnahme der Verklebbarkeit im Sinne von Kuhn, Gildemeister und Woithe ausschließen zu können. Die Arbeit von Sachs-Müke ist am 11. Februar 1917 erschienen; sie wird etwa Dezember 1916 oder Januar 1917 verfaßt sein. Sein 1. „dauernd und hoch agglutinierender“ Coli-Stamm wurde am 25. Sept. 1916 gezüchtet. Es handelt sich also um einen Zeitraum von 3—4 Monaten, in dem die Eigenschaft unverändert beobachtet ist. Flatzek hat 2 Stämme in seinem Besitz, welche 12 und 7 Monate ihre Eigenschaft beibehalten haben.

Ähnliche Beobachtungen hat früher unter anderen Manteufel (8) gemacht. Ich habe mich in meiner letzten Arbeit (9) „Zur Lehre von der Paragglutination“ über seine Ausführungen bereits eingehend geäußert. Ich will meine Worte hier wiederholen, weil sie zugleich eine Antwort auf die Mitteilungen von Sachs-Müke und von Flatzek sind: „Die Untersuchungen Manteufels wurden in der Zeit vom 1. April 1913 bis zum 31. März 1914 ausgeführt. Es handelt sich also um den Zeitraum eines Jahres. Diese Spanne ist keinesfalls beweisend, daß keine vergängliche Paragglutination vorliegt. Es wäre belangreich, von dem Verf. zu hören, wie sich die Stämme weiterhin verhalten haben.

Selbst wenn es sich herausstellen sollte, daß paragglutinierende Stämme ihre Eigenschaft jahrelang beibehalten, so handelt es sich um Ausnahmen von der Regel, die aber die Grundlage der Lehre nicht zu erschüttern vermögen. Es ist durchaus denkbar, daß die Beeinflussung der Begleitbakterien unter besonders günstigen Umständen im Darm sehr stark ist und zu einer langdauernden Paragglutinabilität führt, wie in dem Falle des Bacterium coli C 15 bei Ditthorn und Neumark. Vielleicht üben verwandtschaftliche Beziehungen, über die wir bisher noch wenig wissen, einen Einfluß aus. Daß auch irgendwelche Zufälligkeiten beim Ueberimpfen eine günstige Rolle spielen können, dafür sprechen die Erfahrungen von Kuhn und Ebeling, an die hier erinnert sei. Wir fanden nämlich bei unseren Züchtungsversuchen, daß die Erscheinung bei einzelnen Kolonien einer Plattenzüchtung stärker auftritt als bei anderen.“

Ueber den erwähnten Stamm C 15 von Ditthorn und Neumark (10) möchte ich deren nähere Angaben wiederholen, da er mir von großer Bedeutung für die Weiterentwicklung der Paragglutinationsfrage zu sein scheint.

Der Stamm C 15 wurde von der Malachitgrünplatte gewonnen. Sein am ersten Tage blaues Wachstum auf der v. Drigalski-Conradi-Platte, und der positive Aus-



fall der Probeagglutination mit Typhusserum veranlaßte uns zur näheren Prüfung des Stammes. Er agglutinierte bei einwandfreier Kontrolle mit Typhusserum (Titer 1:10 000) bis zu der Verdünnung 1:2000, mit Paratyphus B-Serum (Titer 1:3000) bis 1:1000, mit Paratyphus A- und Enteritisserum trat auch in den stärkeren Konzentrationen keine Beeinflussung ein. Auf den Spezialnährböden erfolgte typisches Wachstum für *B. coli* (Koagulation der Milch und des Barsiekow-Milchzuckers, starke Gasbildung in Traubenzucker- und Rothbergerschem Neutralrotagar sowie Reduktion des letzteren, Indolbildung). Die ursprünglich blauen Kolonien waren nach 48 Stunden auf der v. Drigalski-Platte vollständig rot geworden.

Eine Wiederholung der Prüfung dieses Stammes auf rein agglutinatorisches Verhalten nach 8 und nach 12 Monaten, sowie nach 3 Jahren ergab, daß er seine Agglutinabilität mit Typhusserum in der ursprünglichen Stärke (1:2000) trotz Ueberimpfens beibehalten hatte, während die Beeinflussung durch Paratyphus B-Serum verloren gegangen war; mit Paratyphus A-Serum zeigte er nach 8 Monaten eine Agglutination in der Verdünnung 1:200.

Ditthorn und Neumark, deren Arbeit den neueren Autoren wohl auch entgangen ist, haben über die Dauer der Paragglutination auf Grund umfangreicher Untersuchungen folgende Schlußsätze aufgestellt:

„Die Beständigkeit der Paragglutination ist eine verschiedene gegenüber den verschiedenen Seris.

Für Typhusserum können wir sagen, daß die Agglutinierbarkeit der betreffenden Coli-Stämme im allgemeinen bald nachläßt und verschwindet. Eine Ausnahme bildet der am Anfang dieser Arbeit erwähnte Stamm C 15, der 3 Jahre fortgezüchtet noch ebenso stark von Typhusserum beeinflusst wurde, wie sofort nach seiner Isolierung.

Die für Ruhrserum paragglutinablen Coli-Stämme haben bisher, d. h. nach 4—12-monatiger Beobachtungszeit, eine nennenswerte Abnahme ihrer besonderen agglutinatorischen Eigenschaften nicht gezeigt.“

Es darf also nicht der Schluß gezogen werden, den Sachs-Mücke und Flatzek wohl aus der Arbeit von Kuhn und Ebeling herausgelesen haben, daß die Vergänglichkeit das Wesen der Paragglutination ist. Das Wesen der Paragglutination liegt darin, daß sie eine bei beliebigen Stämmen durch das Zusammenleben mit pathogenen Stämmen im Körper oder in der Kultur angezüchtete Verklebbarkeit ist. Die Vergänglichkeit ist eine durch das Wesen der Paragglutination bedingte Eigentümlichkeit. Sie ist allerdings von entscheidender Bedeutung, wenn es sich darum handelt, ob ein verklebbarer Stamm paragglutinabel ist oder nicht. Sie ist übrigens in der ersten Arbeit von Kuhn und Woithe noch gar nicht erwähnt, in der wir das Wesen der Paragglutination bereits festlegten. Erst später haben wir die Vergänglichkeit mit Gildemeister zusammen entdeckt. Das Wesen der Erscheinung läßt aber auch durchaus die Möglichkeit zu, daß die Anzüchtung hier und da einmal unter besonders günstigen Umständen zu einer sehr hartnäckigen, ja zu einer dauernden werden kann. Der Stamm C 15 von Ditthorn und Neumark ist hierfür ein wichtiges Beispiel.

**b) Ist die Weil-Felixsche Reaktion bei Flecktyphus Paragglutination?**

Weil und Felix (11) züchteten während einer Fleckfieberepidemie aus dem Harn von Fleckfieberkranken *Proteus*-Stämme, welche weder von Typhus-, Paratyphus- A- und B-, noch von den Dysenteriesera agglutiniert wurden, jedoch mit dem Serum von Fleckfieber-Kranken und -Rekonvaleszenten Agglutination ergaben. Am stärksten wurde stets der Stamm X 19 verklebt. Dieses Verhalten der Stämme wurde von zahlreichen Untersuchern bestätigt, und heute herrscht kein Zweifel mehr darüber, daß die Reaktion spezifisch und ein wertvolles Hilfsmittel für die Fleckfieberdiagnose ist. Der Keim wurde von Dienes auch im Blute entdeckt. Hier wurde er auch von anderen häufig gefunden. Weil und Felix züchteten nach und nach aus über 200 Fleckfieberfällen im ganzen 22 Stämme, darunter 19 aus dem Blute und 3 (X 1, X 2 und X 19) aus dem Harn. Auch die von Baehr, Olitzky und Plotz gefundenen Mikroorganismen zeigen mit Fleckfieberserum Agglutination, nach Dietrich (12) aber nur etwa in 30 Proz. der Fälle und nur bis zu einer Serumverdünnung von 1:200. Diese Stämme werden dabei auch von einzelnen Kontrollsera, besonders bei längerem Stehen der Röhrchen, in gleich hohem Grade beeinflußt. Auch andere Bakterienstämme, die von verschiedenen Autoren aus Fleckfieberkranken gezüchtet waren, ergaben mit einigen Flecktyphussera Agglutination. Diese Reaktionen traten im Institut Robert Koch jedoch nicht mit der Regelmäßigkeit und Exaktheit wie bei dem Stamme X 19 auf.

Otto (13) und Dietrich meinen, daß es sich um Paragglutination im Sinne von Kuhn und Woithe handeln könne. Den *Proteus*-Stämmen würden, um mit Kuhn und Woithe zu sprechen, unter dem Einfluß der spezifisch veränderten Körpersäfte allmählich die den Agglutininen des Fleckfieberserums entsprechenden Rezeptoren angezüchtet. Zu erwarten war indessen, daß auch die mit Fleckfiebertyphus erzeugten Meerschweinchen-, Kaninchen- und Pferdeimmunsera den Stamm X 19 agglutinierten. Das war bisher nicht der Fall. Dietrich sieht darin aber keinen Beweis gegen die Auffassung der Weil-Felixschen Reaktion als einer Paragglutination. Das Versagen dieser Sera wäre vielleicht einfach dadurch zu erklären, daß wir mangels genügender Mengen reinen Antigens nicht in der Lage sind, hochwertig agglutinierendes Fleckfieberimmunserum bei Tieren experimentell zu erzeugen.

Durch die Annahme, daß es sich bei der Weil-Felixschen Reaktion um eine Paragglutination handelt, wäre nach Dietrich auch leicht der große Unterschied in der Agglutinabilität von X 19 und X 1 sowie X 2 zu erklären. Verschieden stark agglutinable Stämme seien bei der Paragglutination auch bei anderen Infektionskrankheiten keine Seltenheit. Dietrich läßt daneben auch die Möglichkeit offen, daß es eine Mischinfektion mit *Proteus* ist, welche vielleicht ebenso charakteristisch für Fleckfieber wäre, wie die mit Streptokokken beim Scharlach. Dann handele es sich also nicht um Paragglutination. Das Ausbleiben der Reaktion bei experimentell mit Fleckfiebertyphus infizierten und im-



munisierten Tieren fände so eine gewisse Erklärung. Jedoch seien die bisherigen Versuchsergebnisse noch nicht genügend umfangreich, um sicher behaupten zu können, daß die Sera von Tieren, welche mit Fleckfiebertvirus vorbehandelt waren, keine Weil-Felixsche Reaktion geben.

Zugunsten der Auffassung, daß es sich bei der Weil-Felixschen Reaktion um Paragglutination handeln kann, erinnere ich übrigens noch besonders an eine Beobachtung, die Kuhn und Woithe machten. Ihre ersten beiden paragglutinablen Stämme wurden von den Ruhrkrankensera mehr beeinflußt als die Laboratoriumsstämme Flexner und Y. Krankensera können also auf paragglutinable Stämme eine besonders starke Wirkung ausüben.

Gegen die Auffassung der Weil-Felixschen Reaktion als einer Paragglutination wenden sich indessen Kolle und Schloßberger (14), Dienes (15) sowie Weil und Felix (16) selbst.

Der Haupteinwand bei allen ist der, daß die X-Stämme ihre Agglutinationsfähigkeit bisher auch nach vielen Züchtungen beibehalten haben. Ich halte ihn nicht für stichhaltig. Ich verweise auf das, was ich in dem vorhergehenden Teil über die Dauer der Paragglutination ausgeführt habe. Die Paragglutination ist im allgemeinen vergänglich, wenn auch in vielen Fällen sehr hartnäckig. Es kommen Stämme vor, welche die Eigenschaft jahrelang beibehalten, wie der Stamm C 15 von Ditthorn und Neumark. Das Verhalten der Weil-Felixschen Stämme muß in dieser Hinsicht weiter sorgfältig überwacht werden<sup>1)</sup>.

Ein weiterer Einspruch von Kolle und Schloßberger stützt sich darauf, daß die Agglutination des Bacillus X 19 durch Fleckfieberserum bis zu Verdünnungen erfolge, die sonst nur mit den höchstwertigen Immunsera gegenüber den homologen Bakterien beobachtet werden. Man kann meines Erachtens nur sagen, daß dieses Vermögen merkwürdig ist, man darf aber daraus keine Schlüsse über die Natur der Erscheinung ziehen.

Sodann hat Dienes einen weiteren Einwurf geäußert. Er teilt 6 Fälle mit, bei denen der Proteus-Keim im Blute gefunden wurde, klinisch Fleckfieber aber nicht vorhanden war. Bei ihnen war die Serumreaktion ebenfalls positiv. In 3 weiteren Fällen, wo die Diagnose auf Typhus bzw. Paratyphus klinisch gesichert war, wurde positive Serumreaktion und darunter auch in 1 Falle eine Proteus-Kultur aus dem Blute erzielt.

Diese Fälle machen es Dienes unmöglich, „die Spezifität der Krankenserumagglutination als eine Paragglutination aufzufassen, da eine solche bei anderen Fällen als Fleckfieber nicht entstehen könnte“. Diesen Einwand halte ich auch nicht für beweiskräftig. Im Gegenteil! Wie aus den Arbeiten von Ditthorn und Neumark sowie aus meiner

---

1) Anm. bei der Korrektur. Inzwischen haben Mühlens und Stojanoff im ersten Julihefte des Archivs für Schiffs- und Tropenhygiene mitgeteilt, daß ein von Král bezogener, in Hamburg durch Dr. Jakobsthal weitergezüchteter Stamm X 19 seine Verklebbarkeit fast ganz eingebüßt hat. Damit ist das Vorliegen von Paragglutination bewiesen.

Arbeit „Zur Lehre von der Paragglutination“ hervorgeht, greift die Erscheinung bei den Immunsera außerordentlich über. Paragglutinable Stämme, die aus Ruhrkranken gezüchtet sind, brauchen durchaus nicht nur im Ruhrserum agglutiniert zu werden, Stämme aus Typhuskranken können mit anderen Seren höhere Agglutination zeigen, als im Typhusserum. Derselbe Stamm kann sich in einem Kaninchenserum ganz anders verhalten als in dem gleichnamigen Eselserum. Das Studium der von mir in der zuletzt erwähnten Arbeit mitgeteilten Tabellen gibt über die bunte Mannigfaltigkeit der agglutinatorischen Beeinflussung eine Uebersicht. Die Beziehungen der paragglutinablen Stämme zu den Patientensera sind zwar nur wenig erforscht. Immerhin muß man aber die Vermutung hegen, daß auch hier ein Uebergreifen auf andere Sera als die von Flecktyphuskranken vorkommen kann. Das Vorkommen der Weil-Felixschen Reaktion bei anderen Erkrankungen überrascht mich daher nicht und muß bei der Verwertung der Reaktion in der Praxis in Rechnung gestellt werden.

Weil und Felix haben außer dem Einwand der Beständigkeit der Erscheinung, den sie in der Zusammenfassung ihrer Ergebnisse im zweiten Abschnitt ihrer 1. Folgerung unter a) anführen, noch eine Reihe von weiteren Einwänden gegen die Annahme einer Paragglutination ausgesprochen.

In ihrer Zusammenfassung weisen sie unter b) auf das Fehlen von paragglutinogenen Gruppen hin. Sie stellten fest, daß weder die mit dem Teststamme Plotz-Bähr von ihnen hergestellten Kaninchenimmunsera noch die mit diesem Keime anderwärts vorbehandelten Menschen eine Agglutination mit den X-Stämmen aufwiesen. Sie meinen, daß eine solche Agglutination stattfinden müsse, da diese Keime zum Fleckfieber in Beziehung stehen und paragglutinabel sein sollen.

Darauf ist zu entgegnen, daß besonders nach den Befunden von Dietrich die Agglutinabilität dieser Stämme, wie wir gesehen haben, eine recht geringe ist. Es ist durchaus nicht gesagt, daß Stämme mit einer so geringen Verklebbarkeit imstande sind, ein Serum zu liefern, das andere, hochagglutinable Stämme beeinflußt.

Der nächste Einwand c) den Weil und Felix machen, ist der, daß der scharfe Unterschied zwischen den Stämmen vom Typus X 2 und vom Typus X 19 wohl mehr für das Vorhandensein einer fixen Eigenschaft als für eine Paragglutination spräche.

Dem ist zunächst entgegenzuhalten, was bereits Dietrich ausgeführt hat, daß gerade der Unterschied zwischen den beiden Stämmen für die Paragglutination spricht. Aus den Untersuchungen von Weil und Felix (a. a. O. S. 394) geht ferner hervor, daß die Autoren alle Stufen der Beständigkeit der Paragglutination bei ihren Stämmen gefunden haben, die auch sonst bei paragglutinablen Stämmen aus Ruhr- und Typhuskranken beobachtet worden sind. Sie schreiben, daß sie unter den vielen verschiedenartigen Keimen, die sie aus dem Harn und dem Stuhl Fleckfieberkranker gezüchtet haben, auch solche fanden, welche sowohl mit Fleckfieberserum als auch mit dem künstlich erzeugten Immunserum der X-Stämme Agglutination ergeben haben. Doch hätten alle diese Stämme nach wenigen Ueberimpfungen ihre spezifischen Eigenschaften verloren. Bei ihnen scheine es sich um eine echte Paragglu-

tionation im Sinne von Kuhn und Woithe gehandelt zu haben. Ich brauche wohl nicht noch einmal zu betonen, daß diese Auffassung von echter Paragglutination nicht im Einklange mit der von uns gegebenen Lehre steht. Gerade die Mannigfaltigkeit der Dauer der Agglutination bei den verschiedenen Stämmen spricht für Paragglutination.

Weil und Felix geben weiter im 2. Abschnitt ihres 1. Schlußsatzes unter d) an, daß bei Bindungsversuchen eine Verschiedenheit der Fleckfieberagglutinine gegen X 2 und X 19 nachweisbar sei, das sei ebenfalls mit der Annahme einer Paragglutination unvereinbar.

Ueber diese Versuche sind nähere Angaben nicht gemacht. Bevor solche nicht vorliegen, läßt sich ein Urteil über diesen Einwand nicht fällen. Es ist aber zu fordern, daß solche Bindungsversuche nicht nur mit dem Stamme X 2 und X 19, sondern mit einer ganzen Reihe von X-Stämmen vorgenommen werden. Auch muß zu solchen Versuchen eine Reihe verschiedener Sera verwendet werden; ich verweise zur Begründung dieser Forderung wieder auf das, was ich in meiner letzten Arbeit „Zur Lehre von der Paragglutination“ hinsichtlich der Mannigfaltigkeit der Nebenwirkungen der Sera ausgeführt habe.

Außer den in ihrer Zusammenfassung wiederholten Einwänden haben Weil und Felix verschiedene Bemerkungen gegen das Vorliegen von Paragglutination gemacht, die ich ebenfalls besprechen will.

e) Auf S. 394 ihrer Arbeit haben sie ausgeführt, es wäre mit der Annahme einer Paragglutination schwer vereinbar, daß ein Keim, der wie X 19 am 4. Krankheitstage gezüchtet wurde, in dieser kurzen Zeit eine Eigenschaft erworben haben soll, die er dann außerhalb des Organismus dauernd beibehält.

Hierzu erinnere ich an die Untersuchungen von Kuhn und Ebeling, die experimentell binnen wenigen Tagen durch Schrägagarzüchtung Paragglutination hervorriefen. Auch Baerthlein gelang es, künstlich paragglutinable Stämme zu gewinnen. Ferner gibt Sachs-Mücke an, daß ihm nach der Methode von Kuhn und Ebeling die Züchtung „von dauernd hoch agglutinablen Stämmen“ gelungen sei. Jedenfalls liegt es durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß ein paragglutinabler Stamm unter dem Einfluß der Fleckfieberinfektion am 4. Krankheitstage zustande kommt, wobei man auch die Zeitdauer der Inkubation in Rechnung stellen kann.

f) Weil und Felix haben sehr eingehend das serologische Verhalten von gewöhnlichen *Proteus*-Stämmen studiert. Sie benutzten Kaninchenimmunsera, welche mit ihren spezifischen Stämmen hergestellt waren und X 2 und X 19 gleich hoch agglutinierten. Unter Benutzung eines solchen Kaninchenimmunserums kann man bei den saprophytischen *Proteus*-Stämmen 3 Gruppen unterscheiden. Gruppe I, welche vom Immunserum der X-Stämme gar nicht, Gruppe II, welche deutlich und Gruppe III, welche stark, öfters bis zum Endtiter agglutiniert wird. Sie betrachten es als auffallend, daß die 3 Gruppen vom Fleckfieberkrankenserum meist gar nicht oder nur von einigen Fleckfiebersera und dann auch von Kontrollsera agglutiniert werden. Es sei unverständlich, warum insbesondere die Stämme der Gruppe III vom Fleckfieberserum unbeeinflusst bleiben, da sie ja agglutinierbare Gruppen besitzen, die mit denen der X-Stämme identisch sind. Dieses Verhalten

läßt sich mit Zuhilfenahme der Paragglutination sehr wohl verstehen. Die Autoren geben in ihrem Schlußsatz 6 folgende Erklärung: „Dieses Verhalten macht die Annahme zweier Antigene nötig, und zwar eines Antigens der Bakterien-substanz, welches bei den spezifischen und den unspezifischen der Gruppe II oder III ähnlich oder identisch ist, und eines spezifischen Antigens, welches nur die X-Stämme besitzen, und welches ausschließlich im erkrankten Organismus unter der Mitwirkung des spezifischen Krankheitsreizes die Bildung der Agglutinine bedingt. Was Weil und Felix hier zur Erklärung heranziehen, ist allem Anschein nach eine Mischinfektion mit besonders gearteten *Proteus*-Keimen. Gegen diese Auffassung sprechen die weiter unten dargelegten Gründe, besonders der an zweiter Stelle entwickelte. Die Annahme, daß unter der Wirkung des Krankheitsreizes bei den *Proteus*-Stämmen die Fähigkeit der Paragglutination zustande kommt, erscheint mir deshalb natürlicher, weil wir uns an die zahlreichen Beispiele der Paragglutination bei Typhus und Ruhr halten können und keiner neuen Hypothese bedürfen.

g) Auf S. 396 (2. Spalte) teilen die Autoren die seltene Beobachtung mit, daß ein Fleckfieberserum auf die unspezifischen Keime ebenso wirkt, wie auf die X-Stämme. Dieses Serum gliche „also einem künstlich erzeugten Immunserum“. Sie schließen, daß dieser Befund die Erklärung der Fleckfieberreaktion im Sinne einer Paragglutination sicher ausschließt. Ich kann dieser Auffassung durchaus nicht nachkommen. Der einzige Schluß, der meiner Ansicht nach aus diesem Vorkommen zu ziehen ist, ist der, daß eine Infektion des kranken Organismus mit dem *Proteus*-Stamme stattgefunden hat, was durchaus im Bereich der Möglichkeit liegt. Daß in diesem Falle also vielleicht eine Mischinfektion sich geltend macht.

Nach meiner Meinung stehen also die Einwände von Weil und Felix gegen die Paragglutination alle auf schwachen Füßen.

Gegen die Erklärung der Erscheinung als einer Mischinfektion, die von Dietrich, von Kolle und Schloßberger sowie von Dienes mit erwogen ist, sind einige Einwände zu machen. Wir kennen zwar solche Mischinfektionen unter anderem bei der Schweinepest und beim gelben Fieber. Bei der Schweinepest, bei der die Verhältnisse wohl am meisten erforscht sind, haben aber Uhlenhuth (17) und seine Mitarbeiter festgestellt, daß Agglutination nur in geringer Stärke bei dem Paratyphus B-Bacillus vorkommt. Man hat bisher nichts davon gehört, daß sich ein Paratyphus B-Stamm gefunden hätte, mit dem man bei kranken Tieren die Diagnose hätte stellen können. Diese Beobachtungen sprechen nicht sehr für eine Mischinfektion mit *Proteus*, sind freilich auch kein Beweis dagegen.

Ein weiterer, stärkerer Einwand ist darin zu sehen, daß die Beeinflussung von gewöhnlichen *Proteus*-Stämmen durch Fleckfiebersera, die man erwarten mußte, außerordentlich selten ist, wie wir aus der Mitteilung von Weil und Felix wissen. Daß verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den *Proteus*-Stämmen herrschen, ersehen wir ja aus den bereits besprochenen Versuchen mit den Immunsera der X-Stämme.

Gerade nach diesen Versuchen mußte man erwarten, daß auch die gewöhnlichen *Proteus*-Stämme stärker durch Fleckfiebersera verklebt würden, wenn eine Mischinfektion vorläge.

Endlich ist noch ein Einspruch gegen die Mischinfektion zu erheben. Da die Reaktion bei dem besonders agglutinablen Stamm X 19 in allen Fällen von Flecktyphus auftritt, so müßte in sämtlichen Flecktyphusfällen eine Mischinfektion mit dem *Proteus*-Stamm vorliegen. Das wäre an sich nichts Verwunderliches, wenn man an die Infektion der schweinepestkranken Tiere mit Paratyphus denkt, immerhin müßte dann der Stamm doch wohl häufiger, besonders in den Flecktyphusleichen gefunden werden.

Wir sind nach allem berechtigt, die Weil-Felixsche Reaktion als Paragglutination aufzufassen. Sie sichert uns die Diagnose des Fleckfiebers, ohne daß wir den Erreger kennen.

Es wird sich empfehlen, auch bei anderen Krankheiten, deren Erreger unbekannt ist, nach paragglutinablen Stämmen zu suchen, welche für die Diagnose verwendet werden können.

### Zusammenfassung.

1) Die Dauer der Paragglutination kann sehr hartnäckig sein und viele Monate, selbst Jahre betragen.

2) Gegen die Auffassung der Weil-Felixschen Reaktion als Folge einer Mischinfektion der Flecktyphuskranken mit *Proteus* sind mehrere Einwände zu erheben.

3) Nach allen bisher über die Reaktion gewonnenen Beobachtungen handelt es sich um Paragglutination.

4) Auch bei anderen Krankheiten mit unbekannten Erregern empfiehlt es sich, nach paragglutinablen Begleitbakterien zu forschen, um ein Hilfsmittel für die Diagnose zu gewinnen.

### Literatur.

- 1) Kuhn, Ph., Die Bedeutung der Paragglutination für die Diagnose des Typhus und der Ruhr. (Med. Klin. 1916. No. 30.)
- 2) Baerthlein, K., Ueber die praktische Bedeutung der Paraserumreaktionen. (München. med. Wochenschr. 1916. No. 49. Feldärztl. Beil.)
- 3) Sachs-Mücke, Beobachtungen über die agglutinierende Wirkung spezifischer Ruhrsera auf andersartige Bakterien aus dem Stuhle Ruhrkranker. (Med. Klin. 1917. No. 6.)
- 4) Flatzek, A., Die Paragglutination von Coli-Bakterien mit Ruhrserum. (Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 7.)
- 5) Kuhn, Ph., u. Woithe, Ueber eigenartige bakteriologische Befunde bei Ruhrkranken. (Med. Klin. 1909. No. 45.)
- 6) — u. Ebeling, Untersuchungen über die Paragglutination. (Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 25. 1916. H. 1.)
- 7) — Gildemeister u. Woithe, Ueber bakteriologische Beobachtungen bei Irrenruhr, insbesondere über die Erscheinung der Paragglutination. (Arbeit. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 31. 1911. H. 2.)
- 8) Mantefel, Untersuchungen über die Bazillenruhr in Deutsch-Ostafrika. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 79. 1915. H. 2.)
- 9) Kuhn, Ph., Zur Lehre von der Paragglutination. (Arch. f. Hyg. Bd. 86. 1917. H. 4 u. 5.)

- 10) Ditthorn u. Neumark, Ueber Coli-Paragglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.)
- 11) Weil, E., u. Felix, A., Zur serologischen Diagnose des Fleckfiebers. (München. med. Wochenschr. 1916. No. 2.)
- 12) Dietrich, Beiträge zur Weil-Felixschen Reaktion beim Fleckfieber. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. No. 51.)
- 13) Otto, R., Ueber den augenblicklichen Stand der mikrobiologischen Fleckfieberdiagnose. (Med. Klin. 1916. No. 44.)
- 14) Kolle, W., u. Schloßberger, H., Serologische Untersuchungen bei Fleckfieber. (Med. Klin. 1917. No. 10.)
- 15) Dienes, L., Das Weil-Felixsche Bakterium. (Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 15.)
- 16) Weil, E., u. Felix, A., Untersuchungen über das Wesen der Fleckfieberagglutination. (Wien. klin. Wochenschr. 1917. No. 13.)
- 17) Uhlenhuth, Hübener, Xylander u. Bohtz, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. (Arbeit. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 27. 1908. H. 3.) (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die von v. Liebermann und Acél angegebene Vereinfachung der Widalschen Reaktion.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium eines Kriegslazarets  
(Leiter: Stabsarzt Dr. Marman n).]

Von Kunigunde Weber.

In No. 50 der Deutsch. med. Wochenschr. 1914 berichten v. Liebermann und Acél über eine neue Methode der Gruber-Widalschen Reaktion, welche bei Bewährung sicher eine große Vereinfachung derselben bedeuten würde. Sie benutzten nämlich nicht das bei der Gerinnung entstehende Serum, sondern fingen das Blut in destilliertem Wasser auf und verwandten die dabei entstehende, klare Blutlösung ohne weiteres zur Agglutinationsprobe. Nach ihren Angaben entsprechen 2 Tropfen Blut ungefähr einem Tropfen = 0,05 ccm Serum. 2 Tropfen Blut, in 1 ccm destilliertem Wasser aufgelöst, würden also einer Serumverdünnung 1:20 entsprechen. Diese Berechnung geht offenbar von der Tatsache aus, daß man aus dem Blute zirka die Hälfte Serum gewinnt, und daß bei Verwendung der Gesamtblutmenge zur Anstellung der Widalschen Reaktion die im Serum vorhandenen Immunkörper durch die anderen Bestandteile des Blutes gewissermaßen verdünnt werden.

Ich habe das Verfahren an mehreren hundert Blutproben nachgeprüft und unter Zugrundelegung der eben angegebenen Berechnung im allgemeinen ähnliche Werte erhalten, wie bei Benutzung des durch Absitzenlassen oder durch Zentrifugieren gewonnenen Blutserums. Anfängliche Versuche, das Blut in geeichten Kapillarpipetten zu entnehmen und von diesen in abgemessene Mengen destillierten Wassers zu bringen, haben sich nicht bewährt, da sich hierbei in den verschiedenen Verdünnungen meist gröbere, blutige Flocken bildeten, welche bei Beurteilung des Agglutinationsausfalles störten. Gleiches zeigte sich übrigens auch zuweilen bei genauer Einhaltung der von den genannten Autoren angegebenen Methode, allerdings in der Regel nur in stärkeren Konzentrationen. Da in Verdünnungen über 1:100 eine störende Flockenbildung nur selten eintrat und Verdünnungen unter 1:100 so wie so diagnostisch meist nicht verwertbar sind, ist dieser Mangel nicht von allzu großer Bedeutung.

Im allgemeinen ging ich folgendermaßen vor: 4 Tropfen Blut wurden in 2 ccm destillierten Wassers aufgefangen (Stammlösung 1:20). Von dieser Lösung wurden 0,5 ccm in ein Röhrchen mit 0,5 ccm Kochsalzlösung gebracht (Verdünnung 1:40), gemischt, von da 0,5 ccm in ein anderes Röhrchen mit 0,5 ccm Kochsalzlösung (Verdünnung 1:80) usw. Nach Zusatz von je 0,5 ccm Bazillenaufschwemmung erhielt man dann Verdünnungen von 1:80, 1:160 usw. Die Röhrchen wurden nach 2-stündigem Verweilen im Brutschrank und weiterem 24-stündigen Verweilen bei Zimmertemperatur mit unbewaffnetem Auge bzw. einer schwachen Lupe beurteilt. Von den Ergebnissen der Vergleichsversuche sind einige in nachstehender Tabelle I wiedergegeben.

Tabelle I.

Prot.-No.	Agglutinationstiter mit Benutzung von	
	Serum	Blutlösung
23	1:160	1:160
27	1:160	1:160
25	1:600	1:480
57	1:2000	1:2000
78	1:400	1:600
74	1:600	1:800
63	1:800	1:800
101	1:100	1:160
103	1:200	1:160
94	1:400	1:400
109	1:200	1:160
71	1:600	1:600

Das Verfahren hat den Vorteil, daß man sowohl von einer Zentrifuge unabhängig ist, als auch die Gerinnung des Blutes nicht abzuwarten braucht, vor allem aber, daß nur winzige Blutmengen benötigt werden. Es empfiehlt sich also vor allem für primitive Verhältnisse. Für solche ist es aber auch von großer Bedeutung, wenn man nicht mit



infektiösen Kulturen, sondern mit abgetöteten Mikroorganismen arbeiten kann. Ich habe daher das Verfahren auch mit dem Fickerschen Diagnostikum nachgeprüft, ferner mit 24-stündigen Bouillonkulturen bzw. Abschwemmungen 24-stündiger Agarkulturen, welche durch Zusatz von 1 Proz. Formalin abgetötet und dann durch Absitzenlassen in hohen Zylindern von gröberen Suspensionen gereinigt waren. Wie sich aus Tabelle II, in der einige dieser Versuche zusammengestellt sind, ergibt, werden auch hiermit brauchbare Resultate erlangt.

Tabelle II.

Prot.-No.	Agglutinationstiter mit Benutzung von		
	Serum und lebende Kulturen	Blutlösung mit	
		Fickerschem Diagnostikum	abgetöteten Kulturen
52	2000	1000	.
56	200	320	320
58	200	320	320
104	800	800	.
67	100	160	160
98	200	160	320
100	200	160	320
106	600	600	.
108	100	320	160
110	160	160	320
114	800	800	.
117	40	40	40
119	40	80	80
124	100	80	80
132	400	640	640

Alles in allem genommen, erscheint die von v. Liebermann und Acél angegebene Methode als eine wesentliche Vereinfachung der Widal'schen Reaktion, besonders in Fällen, in denen eine Zentrifuge nicht zur Verfügung steht oder man auf Gewinnung des Blutserums durch Absitzenlassen, wozu ja meist größere Blutmengen und eine gewisse Zeit erforderlich sind, verzichten will. Sie ist auch bei Verwendung von abgetöteten Kulturen brauchbar. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Metachromgelb als Hemmungsmittel für Kokken und Sporenbildner und seine Verwendbarkeit für Nährböden zur Typhus-Ruhrdiagnose.

[Aus dem Bakteriologisch-serologischen Untersuchungsamt Altona, Stadtkrankenhaus (Vorstand: Oberarzt Dr. Zeißler).]

Von Prof. Dr. G. Gaßner-Rostock, zurzeit Altona.

Ein Nährboden zum Nachweis einer bestimmten Bakterienart aus Bakteriengemischen soll einmal diagnostisch gut verwendbar sein, also das Unterscheiden der betreffenden Bakterienart von anderen gleichzeitig wachsenden leicht ermöglichen, und er soll weiter möglichst elektiv sein, also das Wachstum aller störenden Bakterien nach Möglichkeit ausschließen. Dieser zweiten Bedingung werden z. B. unsere heutigen Choleranährböden in weitgehendem Maße gerecht, wobei die Fähigkeit der Cholerakeime, stark alkalische Reaktion des Nährbodens in besonderem Maße zu ertragen, ein einfaches Mittel in die Hand gibt, das Wachstum der gegen Alkalien ungleich empfindlicheren Begleitbakterien weitgehend zu unterdrücken.

Ungleich schwieriger liegen in dieser Hinsicht die Verhältnisse zum Nachweis der Typhus- und Ruhrbazillen. In diagnostischer Hinsicht allerdings lassen die Nährböden zum Nachweis von Typhus- und Ruhrbazillen aus Bakteriengemischen wenig zu wünschen übrig, weil das fehlende Milchsäuregärungsvermögen gegenüber *Bacterium coli* sich durch den ausbleibenden Farbumschlag geeigneter Indikatoren leicht kenntlich machen läßt. Die Schwierigkeit liegt hier vor allem darin, daß die pathogenen Keime oft nur sehr spärlich vorhanden sind und deshalb von störenden Begleitbakterien leicht überwuchert werden. Es ist also das elektive Prinzip des Nährbodens, das auch heute noch sehr der Verbesserung bedürftig erscheinen muß.

An Versuchen, dem vorhandenen Uebelstand abzuhelpen, hat es natürlich nicht gefehlt. Wir können diese Versuche in 2 Gruppen teilen: erstens solche, in denen ferner stehende Bakterien, wie Kokken und Sporenbildner zurückgedrängt werden sollen, und zweitens solche, in denen nahe verwandte Keime, vor allem *Bacterium coli*, gegenüber Typhus und Ruhr gehemmt werden sollen. Der von v. Drigalski und Conradi (2) vorgeschlagene Kristallviolettzusatz zum Lackmuslaktoseagar verfolgt in erster Linie den Zweck, das Wachstum störender Kokken zu unterbinden, während Loeffler (13, 14) und seine Schüler mittels Malachitgrüns, Roth (17) u. a. mittels Koffeins, Guth (6) neuerdings mittels Selens speziell das Wachs-

tum der Coli-Keime gegenüber den Typhusbazillen unterdrücken wollen.

Wenn wir die gewaltige einschlägige Literatur daraufhin durchsehen, in welchem Umfange sich die bisherigen Hemmungsmittel bewährt haben, so müssen wir zugeben, daß das Ideal eines für Typhusbazillen elektiven Nährbodens noch längst nicht erreicht ist. Es gilt das sowohl in bezug auf die erstrebenswerte Hemmung störender Kokken und Sporenbildner, wie eben auch in bezug auf die wünschenswerte Zurückdrängung der Coli-Kolonien gegenüber den Typhus-Ruhrkeimen; entweder wirken die bisher vorgeschlagenen Mittel nicht vollkommen oder aber ihre Anwendung ist bereits mit einer gleichzeitigen Schädigung der Typhus- oder Ruhrkeime verbunden. Das letztere gilt in besonderem Maße für diejenigen Stoffe wie Malachitgrün und Koffein, mittels deren eine Unterdrückung von *B. coli* gegenüber Typhus erzielt werden soll.

Im folgenden soll nun der Schwerpunkt auf die Wachstumshemmung derjenigen Keime gelegt werden, die nicht zur Typhus-Coli-Gruppe gehören, also in erster Linie der Kokken und Sporenbildner, welche, infolge ihres oft massenhaften Auftretens, das Durchsehen der Stuhlplatten oft unnötig erschweren. v. Drigalski und Conradi haben, wie bereits oben erwähnt, im Kristallviolett einen Stoff angegeben, der gerade zur Hemmung dieser Keime bestimmt ist, und der auch sicher störende Kokken etwas zurückzuhalten vermag; jedoch ist es doch eine recht häufige Erscheinung, daß auch auf Platten mit Kristallviolettzusatz Kokken reichlich auftreten, ja sogar ausschließlich die Platten bedecken können. Es läßt sich das sowohl bei dem eigentlichen Drigalski-Agar beobachten, wie aber auch bei der Kombination anderer Nährböden, z. B. Kongorotagar, mit Kristallviolett; mit letzterem Nährboden ist mehrere Monate im hiesigen Untersuchungsamt gearbeitet, so daß reichliche Erfahrungen in dem angegebenen Sinne vorliegen.

Als Radikalmittel gegenüber Kokken und anderen nicht zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Keimen hatte ferner Mandelbaum (15) einen Rosolsäurenährboden empfohlen, auf dem „außer der Coli-Typhusgruppe und dem *Bac. pyocyaneus* fast kein anderes Bakterium zur Entwicklung kommt. So wird z. B. das Wachstum der *Proteus*-Gruppe, sowie das sämtlicher Kokken, Mikroorganismen, die auf dem Conradi-Drigalski-Nährboden noch gedeihen, vollkommen gehemmt.“ Mit der Wirksamkeit der Rosolsäure muß es jedoch eine eigene Bewandnis haben, denn in einer späteren Mitteilung (16) teilt der gleiche Autor eine Verbesserung seines Rosolsäurenährbodens durch Blutzusatz mit, wobei von einer besonderen Hemmung der anderen Keime nun nicht mehr die Rede ist. „Diese Milchzucker-Rosolsäure-Blutagarplatte vermag das Wachstum der Bakterien nicht in dem Maße zu hemmen, wie Rosolsäureagar allein. Der Zusatz von Blut hat die Wachstumsbedingungen auch für andere Mikroorganismen außer der Typhus-Coli-Gruppe verbessert. Dieser scheinbare Nachteil der Platte erscheint mir aber gerade als Vorzug, weil die jetzt zur Typhusbazillenisolierung gebräuchlichen Nährböden zu stark hemmen. Infolgedessen können in ihrer Lebensenergie geschädigte Typhusbazillen auf solchen zu stark hemmenden Nährsubstraten nicht mehr zur Entwicklung kommen.“

Die entwicklungshemmende Wirkung der Rosolsäure kann auf Grund dieser Angaben nicht gerade als geklärt gelten, und das ist neben anderem wohl einer der Gründe, warum sich der Rosolsäurenährboden nicht durchzusetzen vermocht hat. Auch andere Hilfsmittel zur Hemmung fremder Bakterien haben bei der Nachprüfung versagt, so der vor langem von Chantemesse und Widal (1) und anderen (7) empfohlene Karbolzusatz, oder die von Elsner (3) vorgeschlagene Verwendung von Jodkali, bei der Coli und Typhus unter Ausschluß fast sämtlicher anderer Bakterien wachsen sollen, Typhus allerdings ebenfalls bereits sichtlich gehemmt wird. Zusammenfassend ist also zu sagen, daß ein ideales Hemmungsmittel, das die Bakterien der Typhus-Ruhrgruppe nicht schädigt, bisher nicht gefunden ist.

Bei meinen eigenen Untersuchungen über Typhusnährböden stieß ich nun auf einen Körper, der in ganz besonderer Weise geeignet scheint, dem bisherigen Mangel abzuhelpen, also Kokken und Sporenbildner total oder fast total hemmt, ohne aber die Entwicklung der Typhus-Ruhrbazillen irgendwie schädlich zu beeinflussen. Dieser Körper ist das Metachromgelb II RD<sup>1)</sup> der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation Berlin.

Ich gebe zunächst einen der zahlreichen Versuche in kurzer tabellarischer Zusammenstellung wieder; zur Verwendung kam ein schwach lackmusalkalischer Hefewasserpeptonagar, dem in steigenden Mengen Metachromgelb zugefügt war; geimpft wurde mit Aufschwemmungen der betreffenden Bakterienarten (1 Oese auf 10 ccm NaCl-Lösung).

Zur besseren Uebersicht sind die Wachstumsintensitäten nach einer bereits zu anderen Versuchen (4) verwendeten Intensitätsskala geschätzt wiedergegeben. Es bedeutet:

- 0 kein Wachstum,
- 1 äußerst zartes Wachstum, Kolonien einen leichten, kaum wahrnehmbaren Hauch auf dem Impfstrich bildend,
- 2 zartes Wachstum, Kolonien den Bruchteil eines Millimeter groß, aber doch deutlich wahrnehmbar,
- 3 mittleres Wachstum, Kolonien etwa 1 mm groß,
- 4 gutes Wachstum, Kolonien bis 3 mm groß,
- 5 sehr gutes Wachstum, Kolonien äußerst üppig.

Feinere Unterschiede sind in der folgenden Weise angedeutet: das Zeichen ! bedeutet ein etwas besseres Wachstum, eine Klammer ( ) ein etwas schlechteres Wachstum als die betreffende Zahl angibt. Die gleichzeitige Anführung von 2 Zahlen besagt, daß der beobachtete Wachstumsgrad in der Mitte zwischen den angeführten Zahlen steht.

---

1) Das zu den Versuchen verwendete Metachromgelb trug auf der Packung die Bezeichnung II R P, weshalb ich in einer vorläufigen Mitteilung (München. med. Wochenschrift. 1917. No. 15. S. 505) von Metachromgelb II R P gesprochen habe. Nach brieflicher Mitteilung der Aktien-Gesellschaft für Anilinfabrikation war die Bezeichnung II R P irrtümlich, es muß II R D heißen.

Tabelle 1.

Wachstumsintensitäten auf Hefewasserpeptonnährboden mit Metachromgelbzusatz, nach 24-stündiger Bebrütung.

Nährboden: Hefewasser 1000)  
 Pepton 10)  
 NaCl 5)  
 Agar 30)

} schwach lackmusalkalisch

Bakterienart	Metachromgelbzusatz in Prozenten								
	0	0,01	0,025	0,05	0,075	0,1	0,12	0,15	0,20
<i>B. coli</i>	3—4	(4)	(4)	4	(4)	(4)	3—4	(4)	(4)
Typhus	3!	3!	3—4	3!	3—4	3!	3!	3!	3!
Paratyphus B	3—4	(4)	3—4	(4)	3—4	(4)	3—4	3—4	3—4
Ruhr Y	3!	3—4	3—4	3—4	3!	3!	3!	3!	3
Ruhr Shiga-Kruse	3!	Versuch fehlt	Versuch fehlt	3!	Versuch fehlt	3—4	Versuch fehlt	3!	Versuch fehlt
Sporenbildner	5	Versuch fehlt	Versuch fehlt	Versuch fehlt	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus pyogen.</i>	3	2—3	2—3	2	1—2	0	0	0	0
<i>Streptococcus acidilactici</i>	2—3	1	0	0	0	0	0	0	0
Luftkokken	5	Versuch fehlt	Versuch fehlt	Versuch fehlt	0	0	0	0	0

Aus den vorstehend mitgeteilten Ablesungen folgt, daß von den zur Untersuchung herangezogenen Mikroorganismen die Bakterien der Typhus-Ruhr-Coli-Gruppe durch Metachromgelbzusatz innerhalb der angegebenen Grenzen, d. h. bis zu einer Konzentration von 0,20 Proz. nicht gehemmt werden; *Staphylococcus pyogenes*, *Streptococcus acidilactici* und ein auf Platten nach längerem Offenstehen oft anzutreffender und sehr üppig wachsender Luftcoccus, der nicht näher bestimmt ist, wurden dagegen außerordentlich gehemmt und bei höheren Metachromgelbkonzentrationen völlig unterdrückt. Der Hemmungswert des Metachromgelbs liegt für die verschiedenen Kokkenarten etwas verschieden; so ist *Streptococcus acidilactici* und der Luftcoccus gegen Metachromgelb sichtlich empfindlicher als *Staphylococcus pyogenes*, für welchen der Hemmungswert erst um 0,1 Proz. herum liegt. Der gleichzeitig zu den Versuchen herangezogene Sporenbildner ist ebenfalls nicht näher bestimmt, er hatte auf Kongorotagar + Kristallviolett innerhalb 48 Stunden einen fast handgroßen roten lappigen Belag gebildet. In vorstehendem Versuch steht der maximalen Wachstumsintensität von 5 auf Peptonagar ohne Metachromgelb eine völlige Wachstumsunterdrückung durch Metachromgelbzusatz von 0,075 bis 0,20 Proz. gegenüber.

So werden also Kokken und Sporenbildner durch geringen bis mittleren Metachromgelbzusatz in ihrer Entwicklung total unterdrückt, während andererseits die in Tabelle 1 wiedergegebenen Wachstumsgrade

erkennen lassen, daß die Bakterien der Typhus-Ruhr-Coli-Gruppe auch durch höheren Metachromgelbzusatz in ihrer Entwicklung nicht gehemmt werden.

Das in Tabelle 1 wiedergegebene Wachstumsbild ist nach 24-stündiger Bebrütung gewonnen; nach 48-stündiger Bebrütung machen sich gewisse Unterschiede in dem Sinne geltend, daß die Hemmungswerte für Kokken etwas nach oben verschoben sind. *Staphylococcus pyogenes* wächst auf schwach lackmusalkalischem Nähragar schließlich, wenn auch nur in Spuren und sehr zart, auf 0,1 Proz. Metachromgelb (gegenüber 0,075 Proz. nach 24-stündiger Bebrütung). Es geht das aus der folgenden Zusammenstellung von Versuchen hervor, die außerdem noch den Zweck verfolgten, über die Bedeutung der Reaktion des Nährbodens auf die entwicklungshemmende Wirkung des Metachromgelbs auf Kokken Aufschluß zu geben.

Tabelle 2.

Wachstumsintensitäten von *Staphylococcus pyogenes* auf Nährböden verschiedenen Metachromgelbgehaltes und verschiedener Reaktion. Nährbodenzusammensetzung wie in Versuchen der Tabelle 1.

Reaktion des Nährbodens	Metachromgelbzusatz in Prozenten								
	0	0,01	0,025	0,05	0,075	0,1	0,12	0,15	0,20
Ablesung nach 24 Stunden.									
schwach sauer	2-3	2!	1-2	0	0	0	0	0	0
lackmusneutral	3	3	2-3	1-2	0	0	0	0	0
schwach lackmusalkalisch	3	2-3	2-3	2	1-2	0	0	0	0
stark lackmusalkalisch	3	3	3	3	(3)	2-3	2-3	(2)	1-2
Ablesung nach 48 Stunden.									
schwach sauer	3	2-3	(2)	1	0	0	0	0	0
lackmusneutral	3-4	3-4	3	2-3	1-2	0	0	0	0
schwach lackmusalkalisch	3-4	3-4	3!	2-3	2	1!	0	0	0
stark lackmusalkalisch	3-4	(4)	3-4	3-4	3-4	3!	3	2-3	2

Zur Verwendung kam der gleiche Nährboden in 4 verschiedenen Reaktionen: 1) schwach sauer, Lackmuspapier schwach aber deutlich rötend, 2) genau lackmusneutral, 3) schwach lackmusalkalisch, d. h. in der für Drigalski-Agar üblichen Reaktion, 4) stärker lackmusalkalisch. Eine genauere Bestimmung der Reaktion wurde nicht vorgenommen, erscheint auch nicht nötig, da das Versuchsergebnis ein überaus eindeutiges ist: die entwicklungshemmende Wirkung des Metachromgelbs ist in außerordentlichem Maße von der Reaktion des Nährbodens abhängig; sie ist um so stärker, je saurer der Nährboden ist und verliert außerordentlich bei stark alkalischer Reaktion. Da für Typhusnährböden (Drigalski-Agar, Kongorotagar usw.) allgemein eine schwach lackmusalkalische Reaktion angewendet wird, so müssen die für diese Reaktion gefundenen Hemmungswerte für die praktische Anwendung des Metachromgelbs herangezogen werden; eine Konzentration von 0,1 Proz.

muß als geeignete Konzentration erscheinen, um das Wachstum der Kokken auf schwach lackmusalkalischem Nährboden zur Genüge ausschalten. Durch diese Konzentration wird *Staphylococcus pyogenes*, der zu den gegen Metachromgelb relativ widerstandsfähigen Kokken gehört, fast total gehemmt, während für die anderen Kokken und Sporenbildner nach den in Tab. 1 wiedergegebenen Daten bereits geringere Konzentrationen als ausreichend anzusehen sind.

So haben wir für den üblichen schwach lackmusalkalischen Nährboden im Metachromgelb 1:1000 einen geeigneten Zusatz, der mit Sicherheit das Wachstum störender Kokken und Sporenbildner ausschaltet, ohne dasjenige der Typhus-Ruhrkeime irgendwie zu schädigen. Daß eine Schädigung der letzteren nicht vorliegt, geht auch aus der hundertfach beobachteten Tatsache hervor, daß das Agglutinationsvermögen dieser Keime nicht leidet, was ja bekanntlich bei anderen Mitteln, z. B. Malachitgrün, der Fall ist.

Die überaus präzise Wirkung des Metachromgelbs läßt sich durch weitere einfache Versuche sehr schön demonstrieren. Man stelle Drigalski-Schalen, die einen mit Agar + 0,1 Proz. Metachromgelb, die anderen mit dem gleichen Agar ohne Metachromgelb offen an einen recht staubigen Ort, Sorge außerdem durch Luftbewegung dafür, daß sie in gleicher Weise gut einstauben und bebrüte sie dann in bekannter Weise bei 37°: auf den Platten mit Metachromgelbzusatz sind dann nach 24 Stunden fast keine Kolonien entwickelt, während die Platten ohne Metachromgelb nach dieser Zeit fast völlig von Kokken und Sporenbildnern bedeckt sind.

Der Metachromgelbzusatz hat sich auch in den praktischen Stuhluntersuchungen durchaus bewährt. In umfangreichen Versuchen war zunächst festgestellt, daß sämtliche Typhus-, Paratyphus- und Ruhrstämmen des hiesigen Untersuchungsamtes durch Metachromgelb der angegebenen Konzentration (0,1-proz.) nicht ungünstig beeinflusst werden. Andererseits zeigten Stühle, die auf Kongorotagar + Kristallviolett oder Lackmuslaktoseagar + Kristallviolett eine überwiegende Kokkenflora aufwiesen, auf Metachromgelbnährböden eine völlige Unterdrückung der Kokkenflora. Seit fast 8 Monaten arbeitet das hiesige Untersuchungsamt mit Metachromgelbnährböden, ohne daß es in dieser Zeit ein einziges Mal vorgekommen ist, daß Kokken durch Ueberwuchern der Platten das Bild störend beeinflussen. So zeigen auch die praktischen Ergebnisse den idealen Wert des Metachromgelbs als Hemmungsmittel derjenigen Keime, die nicht zur Typhus-Coli-Gruppe gehören.

Eine besondere Frage ist nun noch die Kombinationsmöglichkeit des Metachromgelbs mit anderen Farbstoffen. Metachromgelb allein zeigt keinen Farbumschlag bei Säure- oder Alkalibildung durch Bakterien, und da wir einen solchen Farbumschlag zur Differenzierung von Typhus und Coli benötigen, sind wir gezwungen, Metachromgelb als Zusatz zu einem der bekannten Nährböden zu verwenden. Selbstverständlich muß von Fall zu Fall festgestellt werden, ob und in welchem Umfang die Wirksamkeit des Metachromgelbs durch den als Indikator dienenden Farbstoff beeinflusst wird. Für den Kindborgschen (8, 9) Säurefuchsinagar und für den von Liebermann und Acél (12) eingeführten Kongorotagar ließ sich eine solche Beeinflussung nicht fest-



stellen, wohl dagegen wurde bei einer Kombination des Metachromgelbs mit Lackmuslaktoseagar, wobei also dem Drigalski-Agar statt Kristallviolett 0,1 Proz. Metachromgelb zugefügt wurde, eine deutliche Hemmung von Ruhr Shiga-Kruse beobachtet, während Metachromgelb allein oder in Kombination mit Kongorot eine Hemmung nicht hervortreten läßt. Für Ruhr Shiga-Kruse eignet sich also die Kombination Lackmuslösung-Metachromgelb nicht. Es ist vielleicht kein Zufall, daß gerade Ruhr Shiga-Kruse diese Eigentümlichkeit zeigt; denn für diese war ja im Gegensatz zu Typhus und den anderen Ruhrarten die Forderung erhoben, Lackmuslaktoseagar ohne Kristallviolettzusatz zu verwenden, um eine Schädigung auszuschließen (11). Neuerdings haben zwar die Beobachtungen von Wollin (18) zu entgegengesetzten Ergebnissen geführt; das im obigen festgestellte abweichende Verhalten von Ruhr Shiga-Kruse auf Lackmuslaktoseagar mit Metachromgelbzusatz muß jedoch zu denken geben.

Wir müssen also mit der Möglichkeit rechnen, daß Metachromgelb in Kombination mit bestimmten Farbstoffen eine andere Wirkung zeigt als allein oder mit anderen Farbstoffen. Da Metachromgelb für sich in den angegebenen Kombinationen für Typhus und Ruhr indifferent ist, so ergibt sich die Forderung, solche Farbstoffe als Indikatoren auszuschließen, welche diese indifferente Wirkung des Metachromgelbs für Typhus-Ruhrbazillen ungünstig beeinflussen. Daß es andererseits Farbstoffe gibt, welche die Wirkung des Metachromgelbs in keiner Weise beeinträchtigen, zeigt schon die oben erwähnte Vereinigung von Kongorotagar und Metachromgelb; ungleich geeigneter allerdings erscheint ein bisher zur Typhus-Ruhrdiagnose noch nicht herangezogener Farbstoff, dessen außerordentliche und gerade bei einer Kombination mit Metachromgelb hervortretende Vorzüge in einer gleichzeitig erscheinenden Mitteilung (5) dargelegt sind.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Chantemesse u. Widal, Recherches sur le Bac. typhique et l'étiologie de la fièvre typhoïde. (Arch. de phys. norm. et path. 1887. p. 217.)
- 2) v. Drigalski u. Conradi, H., Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Typhusbazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 283.)
- 3) Elsner, Untersuchungen über elektives Wachstum der Bacterium coli-Arten und des Typhusbacillus und dessen diagnostische Verwertbarkeit. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 21. 1896. S. 25.)
- 4) Gaßner, G., Hefewassernährböden und ihre Bewertung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 308.)
- 5) — Ein neuer Dreifarbenährboden zur Typhus-Ruhrdiagnose. (Ebenda. Bd. 80. 1917. Heft 4.)
- 6) Guth, F., Selennährböden für die elektive Züchtung von Typhusbazillen. (Ebenda. Bd. 77. 1916. S. 487.)
- 7) Holz, M., Experimentelle Untersuchungen über den Nachweis von Typhusbazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. S. 143.)
- 8) Kindborg, E. u. A., Ueber eine neue Farbenreaktion zur Erkennung des Typhusbacillus und verwandter Arten im Plattenausstrich. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. S. 554.)

- 9) Kindborg, E., Verbesserter Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhrdiagnose. (Ebenda. Bd. 77. 1916. S. 442.)
- 10) Kutscher, K. H., Abdominaltyphus. (Kolle-Wassermann, Handb. Bd. 3.)
- 11) Lentz, O., Dysenterie. (Ebenda.)
- 12) v. Liebermann, L., u. Acél, J., Neuer gefärbter Nährboden zur scharfen Unterscheidung säurebildender Bakterien von anderen, insbesondere der Coli-Bazillen von Typhusbazillen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1914. S. 2093.)
- 13) Loeffler, F., Der kulturelle Nachweis der Typhusbazillen in Faeces, Erde und Wasser mit Hilfe des Malachitgrüns. (Ebenda. 1906. S. 289.)
- 14) — Zum Nachweis und zur Differentialdiagnose der Typhusbazillen mittels der Malachitgrünnährböden. (Ebenda. 1907. S. 1581.)
- 15) Mandelbaum, M., Veränderungen zweier Nährböden — Rosolsäure- und Blutagar — durch Säure bzw. Alkali bildende Bakterien. (München. med. Wochenschr. 1909. S. 2475.)
- 16) — Eine neue Platte zur Züchtung von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe aus Faeces. (Ebenda. 1912. S. 306.)
- 17) Roth, E., Versuche über die Einwirkung des Trimethylxanthins auf das Bacterium typhi und coli. (Arch. f. Hyg. Bd. 49. 1904. S. 199.)
- 18) Wollin, H., Ueber die Brauchbarkeit des normalen Drigalski-Conradi-Agar für die Dysenteriediagnose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 283.)

(G. C.)

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

---

*Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.*

---



---

### Inhalt.

- |   |   |
|---|---|
| <p><b>Appel, Leo</b>, Zur Färbetechnik der Malaria-paratiten, S. 105.</p> <p><b>Burckhardt, J. L.</b>, und <b>Bariques, M. L.</b>, Ueber einige neuere Methoden der Diphtheriediagnose, S. 15.</p> <p><b>Fitschen, Eleonore</b>, Körner in nach Ziehl gefärbten Tuberkelbazillen, S. 29.</p> <p><b>Gaßner, G.</b>, Metachromgelb als Hemmungsmittel für Kokken und Sporenbildner und seine Verwendbarkeit für Nährböden zur Typhus-Ruhrdiagnose, S. 120.</p> <p><b>Hallenberger</b>, Beitrag zur Aetiologie der Variola, S. 89.</p> <p><b>Köves, J.</b>, Rauschbrand- und Bradsot-ähnliche Krankheit der Schweine, S. 40.</p> <p><b>Kuhn, Philalethes</b>, Fragen der Paragglutination, S. 107.</p> <p><b>Pfibrum, Ernst</b>, Ueber Dysenterietoxin</p> | <p>und Dysenterieantitoxin. I. Ein bisher unbekanntes Dysenterietoxin in den man-nitvergärenden Stämmen A-H von Kruse, S. 33.</p> <p><b>de Raadt, O. L. E.</b>, Ueber den diagnosti-schen Wert des Serumpeptonverfahrens bei der bakteriologischen Diagnose der Cholera, S. 12.</p> <p><b>Schmitz, K. E. F.</b>, Was leistet die bak-teriologische Typhusuntersuchung? Ent-gegnung auf die Arbeit von Kalthoff, Bd. 79. S. 145, S. 1.</p> <p><b>Unna, P. G.</b>, und <b>Tielemann, Eleonore Th.</b>, Zur Chemie der Amöben, S. 66.</p> <p><b>Weber, Kunigunde</b>, Ueber die von v. Liebermann und Acél angegebene Vereinfachung der Widal'schen Reak-tion, S. 117.</p> |
|---|---|

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 80. Heft 4.

Ausgegeben am 15. November 1917.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber choleraähnliche Vibrionen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Mutationsvorgänge.

[Aus dem Pathologischen Institut des allgemeinen Krankenhauses des Békéser Komitates zu Gyula (Ungarn).]

Von Prosektor Dr. Ignatz Feldmann.

Schon kurze Zeit nach der Entdeckung des Choleraerregers wurden auch choleraähnliche Vibrionen aufgefunden, so im Jahre 1885 der *Vibrio Deneke* und der *Vibrio Finkler* und Prior, im Jahre 1887 der *Vibrio Metschnikoff*.

Später kamen hinzu *V. Massauah* (1891), *V. Ghinda* (1891), *V. phosphorescens* (1893), *V. Nasik*, *V. Danubius*, *V. aquatilis*, *V. Bonhoff*, *V. septicus* (siehe Kolle u. Schürmann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 4. S. 99).

Die meisten — mehr als 100 — Vibrionenspezies wurden in dem hamburgischen Hygienischen Institut unter Leitung Dunbars von Wasserproben aus den Wasserläufen der Spree, Elbe, Havel und Oder gezüchtet (Kolle u. Schürmann, l. c.).

Alle bisher erwähnten Vibrionenbefunde wurden aber erhoben, als der bakteriologischen Forschung die Immunitätsreaktionen noch nicht zur Verfügung standen.

Seit der Ära der Immunitätsreaktionen berichteten über mehrere Vibrionenarten F. Gotschlich (über 32 Vibrionensämme), Sparmberg, Bernhardt, Kandiba, Baerthlein, Zlatogoroff, Horowitz, Wankel, Dold und Harris, über je eine Vibrionenart Lénárd, Gasiorowski, Klimenko, Gieszczykiewitz und Sierakowski, Kutscher und Peters.

Besonders verdienen hier die von Kolle, E. Gotschlich, Hetsch, Lentz und Otto ausgeführten, sehr gründlichen und wertvollen Untersuchungen hervorgehoben zu werden, die außer morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften nicht nur das Verhalten gegenüber spezifischen Choleraagglutininen und -bakteriolyseinen berücksichtigten, sondern außerdem noch mit jedem der von ihnen untersuchten choleraähnlichen Vibrionensämme je ein Kaninchen durch intravenöse Vorbehandlung immunisierten und bei jedem Vibrionensamm die agglutinierende und bakteriolytische Wirkung aller dieser Kaninchensera prüften.

Nach dem Ergebnis dieser Untersuchungen gehörten die geprüften 22 choleraähnlichen Vibrionensämme, wenigstens den Immunitätsreaktionen nach, 17 besonderen Arten an. Ob auch den kulturellen Eigenschaften nach ebenso viele verschiedene Arten anzunehmen sind, läßt sich aus dieser verdienstvollen Arbeit nicht sicher bestimmen, da die Verfasser, andere Ziele verfolgend, nur mit wenigen Nährböden arbeiteten; dabei ist zu berücksichtigen, daß damals mehrere der heute zur Verfügung stehenden, gut bewährten Nährböden noch nicht bekannt waren.

Seitdem die Immunitätsreaktionen die ihnen gebührende wichtige Rolle unter den bakteriologisch-diagnostischen Untersuchungsmethoden sich erobert haben, wurden an dritter Stelle die meisten (18) choleraähnlichen Vibrionensämme von Baerthlein untersucht, der schon zahlreiche Nährböden gebrauchte, als die vorher erwähnten Autoren, und neben der Agglutinationsprüfung auch die Komplementbindungsreaktion ausführte. Das agglutinatorische Verhalten prüfte er aber nur gegenüber einem Choleraeserum und einem *Alcaligenes*-Serum und die Komplementbindungsreaktion nur mit einem Cholera-kaninchenserum. Diese beschränkte Ausdehnung seiner Untersuchungen entsprach allerdings dem Zweck des Autors, um die prinzipiellen Unterschiede zwischen den choleraähnlichen Vibrionen und den von ihm der *Bac. faecalis alcaligenes*-Gruppe zugerechneten Bakterien darzutun. Sie geben aber keine Antwort auf die uns hier interessierende Frage, wie vielen verschiedenen Arten die von ihm untersuchten choleraähnlichen Vibrionen angehören.

Die Tatsache, daß die von Kolle, Gotschlich, Hetsch, Lentz und Otto beschriebenen 22 choleraähnlichen Vibrionenstämme sich serologisch überwiegend als verschiedene Arten verhalten, verleiht zwar der Annahme eine Berechtigung, daß unter den choleraähnlichen Vibrionen tatsächlich viele Arten existieren. Doch muß auch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß das serologische Verhalten der choleraähnlichen Vibrionen vielleicht dem des Coli-Bacillus ähnelt, dessen einzelne Stämme bekanntlich oft nur von einem solchen Serum agglutiniert werden, welches durch Immunisierung mit dem fraglichen Bacillus hergestellt wird, nicht aber von anderen Coli-Seren, und so ist die Fragestellung gerechtfertigt, ob die Immunitätsreaktionen bei den choleraähnlichen Vibrionen die Bedeutung von artunterscheidenden Faktoren verdienen oder nur Stammesunterschiede andeuten, wie es beim Coli-Bacillus der Fall ist.

Da es mir, als Leiter einer Cholerauntersuchungsstation, während der Epidemien im Jahre 1913, 1914 und 1915 gelang, mehrere choleraähnliche Vibrionen zu isolieren, so bot sich mir die Gelegenheit, dieser Frage näher zu treten.

Um dieselbe beantworten zu können, unterwarf ich die von mir gezüchteten Vibrionen genauen morphologischen, biologischen und kulturellen Untersuchungen. Sie wurden besonders auf mehr Nährböden geprüft, als es bei choleraähnlichen Vibrionen früher allgemein üblich war.

Außerdem wurde mit jedem Vibrionenstamm je ein Kaninchen immunisiert, und mit jedem der so bereiteten Immunsera wurden alle unsere Vibrionenstämme der Agglutinations- und Komplementbindungsprobe unterworfen, welche letztere als artunterscheidende Methode zwischen choleraähnlichen Vibrionen meines Wissens bisher noch nicht verwendet wurde.

Weiterhin habe ich auch die Mutationsvorgänge genauer verfolgt, die beim echten Choleraerreger (von Baerthlein, Eisenberg, Bail) eine sehr gründliche Bearbeitung, bei den choleraähnlichen Vibrionen aber noch keine ausführliche Beschreibung erfahren haben.

Diese Untersuchungen sollten uns darüber aufklären, ob die Mutationsvorgänge bei den choleraähnlichen Vibrionen nicht etwa irgendwelche Erscheinungen darbieten, durch welche der Choleraerreger von den choleraähnlichen Vibrionen und die verschiedenen Arten letzterer voneinander unterschieden werden können.

Meine Untersuchungen beziehen sich auf 10 Vibrionenstämme, die ich als Leiter der Cholerauntersuchungsstation in Gyula im Jahre 1913, 1915 und 1916 reingezüchtet hatte.

Während der Choleraepidemie im Jahre 1913 und 1914 gelang es mir, bei einem Material von 2286 Untersuchungsobjekten nur einen einzigen choleraähnlichen Vibrio zu isolieren. Hingegen konnte ich während der Epidemie 1915, deren letzte Erkrankungsfälle in der ersten Hälfte des Januar 1916 zur Untersuchung gelangten, von 1424 Fällen 10 choleraähnliche Vibrionen isolieren. (Ein Vibrio konnte leider nicht näher untersucht werden.)

Dieses auffallende Mißverhältnis glaube ich mit der Tatsache in Zusammenhang bringen zu können, daß ich während der Epidemien im Jahre 1913 und 1914 das Dieudonné'sche Blutalkaliagar nur hier und da zur Züchtung gebrauchte, im Jahre 1915 es aber systematisch angewendet hatte.

Dieser Nährboden gibt nämlich nach meinen Erfahrungen nicht nur bei der Isolierung des Choleraerregers, sondern auch bei der der cholera-ähnlichen Vibrionen bessere Resultate, als der Kochsche Choleraagar.

### I. Fall. *Vibrio* No. 21.

wurde aus Donauwasser, das von Palánk (Komitat Temes) am 2. November 1913 dem Laboratorium eingesendet wurde, reingezüchtet.

Bevor ich die genauere Schilderung dieses *Vibrio* beginne, sei noch erwähnt, daß ich von der Gemeinde Palánk außerdem noch 4 Brunnenwässer zur Untersuchung bekommen hatte und daß in den Peptonwasserkulturen dieser und später auch zahlreicher anderer Wasserproben aus Brunnen und Flüssen mikroskopisch wenige Vibrionen nachgewiesen werden konnten, wogegen es mir auf dem Choleraagarnährboden nach Koch gelang, nur diesen einzigen *Vibrio* zu isolieren.

*Vibrio* No. 21 ist im allgemeinen ca. zweimal so lang, wie der Choleraerreger, dabei erscheint er dünner und weniger gekrümmt; es finden sich aber auch gut gekrümmte, kurze Vibrionen, wie auch gerade Stäbchen. Die Beweglichkeit ist sehr lebhaft. Bei der Cilienfärbung (die von Hage modifizierte Fontanasche Methode gab mir die besten Resultate) zeigten zwar die meisten Vibrionen nur eine endständige Geißel, doch fanden sich auch Vibrionen mit je 1 Cilie an beiden Enden (amphitrich) und auch solche mit 3 Geißeln, die von einem Pol ihren Ausgang nahmen (lophotrich).

Bouillon wird von diesem *Vibrio* gleichmäßig getrübt unter Bildung einer Kahmhaut.

Auf Gelatineplatten bildet er nach 48 Stunden höchstens nadelstichgroße — bei schwacher Vergrößerung (Reichert, Ok. II, Obj. 3) beobachtet — runde, blasse, kaum gekörnte, oberflächliche und gut gekörnte, den echten Cholera Kolonien gegenüber aber noch immer helle, tiefe Kolonien, welche die Gelatine auch nach 1 Woche nicht verflüssigen. Auch in der Stichkultur wird keine Verflüssigung beobachtet.

Auf gewöhnlichem Schrägagar wächst der *Vibrio* No. 21 in Form eines grauen, durchscheinenden Belages, der dünner ist, als beim Choleraerreger und bei den übrigen, weiterhin zu beschreibenden choleraähnlichen Vibrionen. Auf Agarplatten (gewöhnlichen und alkalischen) entwickeln sich nach 24 Stunden höchstens 1 mm breite, dünne, durchscheinende, runde, glatte Kolonien. Die Agarkultur sieht in einer die Platinöse ausfüllenden Menge weißlichgrau aus.

In Traubenzuckeragar sehr spärliches Wachstum; keine Gasentwicklung.

Traubenzucker- und Milchsüßbouillon wird im kurzen Schenkel der Gäröhrchen getrübt, im langen Schenkel bleibt sie durchsichtig.

Milch wird selbst nach 8 Tagen nicht zur Gerinnung gebracht und reagiert nach 2 Tagen amphoter, nach 10 Tagen alkalisch.

Die Kartoffelkultur erscheint als ein farbloser, feucht glänzender, kaum sichtbarer Belag — so wie beim Typhusbacillus.

Lackmusmolke wird nach 24 Stunden blau und bleibt trotz starker Kahmhautbildung durchsichtig. Nach 3 Wochen ist ihre Farbe rot, und es zeigt sich leichte Trübung. Nach 3 Monaten ist die tiefblaue Farbe wieder hergestellt.

In Neutralrotagar wird kein Gas gebildet, der obere Teil des Nährbodens hellt sich aber auf.

Loefflers Malachitgrünlösung I und II erleiden keine sichtbare Veränderung.

Barsiekow I (Lackmus-Nutrose-Traubenzuckerlösung) und Barsiekow II (Lackmus-Nutrose-Milchsüßlösung), wie auch Hetschs Lackmus-Nutrose-Mannitlösung zeigen weder Farbenveränderung noch Trübung.

Auf Drigalski-Conradis Agarplatten entwickelt der *Vibrio* No. 21 24 Stunden nach der Aussaat 1—2 mm breite, blaue, auf Endo-Agar 1—1½ mm breite, farblose, runde, durchscheinende Kolonien, die nach mehreren Tagen in ihrem Zentrum rot werden.

Auf Dieudonné-Agar erscheint er in Form von zarten grauen Kolonien; das Wachstum ist viel schwächer als beim Cholera*vibrio*.

Blutserum wird nicht verflüssigt.

In mit Rinder- oder Hammelblut gemischtem Agar entsteht keine Hämolyse. Nitrosoindolreaktion schwach positiv.

Tierpathogenität. *Vibrio* No. 21 ist weder für Kaninchen, bzw. Meerschweinchen, noch für Tauben pathogen.

Agglutination und Komplementbindungsreaktion. Das Serum eines mit *Vibrio* No. 21 immunisierten Kaninchens agglutiniert den homologen Stamm bis

zu einer Verdünnung von 1:500, die übrigen 9, noch zu beschreibenden Vibrionen (Tabelle I), und den Choleraerreger aber überhaupt nicht.

Tabelle I.

Vibrionen	Agglutinierende Sera									
	No. 21	No. 266	No. 277	No. 301	No. 324	No. 386	No. 1012	No. 1287	No. 75	No. 78
Vibrio No. 21	1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
" " 266	0	1:2000	0	0	0	1:200	0	0	0	0
" " 277	0	0	1:2000	0	0	0	0	0	0	0
" " 301	0	0	0	1:3000	0	0	0	0	0	0
" " 324	0	0	0	0	1:2000	0	0	0	0	0
" " 386	0	0	0	0	0	1:2000	0	0	0	0
" " 1012	0	0	0	0	0	0	1:2000	0	0	0
" " 1287	0	0	0	0	0	0	0	1:2000	1:2000	1:2000
" " 75	0	0	0	0	0	0	0	1:2000	1:2000	1:2000
" " 78	0	0	0	0	0	0	0	1:2000	1:2000	1:2000

Dasselbe Serum wies nur mit Vibrio No. 21 und 301 Komplementbindung auf. Die positive Reaktion mit Vibrio No. 301 bedeutet aber keine Verwandtschaft zwischen letzterem und dem Vibrio No. 21, da Vibrio No. 301 auch für sich allein, also ohne Zusatz von Immunserum hämolysehemmend wirkt (Tabelle II).

Tabelle II.

No.	Menge und Art des Serums	Komplement	Ergebnis der Hämolyse											
			$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 21	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 266	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 277	$\frac{1}{2}$ Oese V. No. 301	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 324	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 386	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1012	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1287	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 75	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 78	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio	
1	0,03	Immun- serum No. 21	0	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
2	0,01		+	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
3	0,003		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
4	0,001		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
5	0,03	Normal- Kan.-Ser.	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
6	0,01		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
7	—		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
8	—		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

0 = keine Hämolyse, + = mäßige Hämolyse, ++ = starke Hämolyse, +++ = komplette Hämolyse

Bei der Ausführung der Komplementbindungsreaktion hielt ich mich an Baerthlein, und auch die Tabellen sind nach seiner Art eingeteilt. Nur insofern weiche ich von ihm ab, daß ich, um mit dem Meerschweinchenmaterial zu sparen, statt 0,1 nur 0,05 ccm Komplement zu einem Röhrchen gebrauchte; weiterhin mußte ich meistens mit auf Rinderblut eingestelltem Ambozeptor arbeiten, da mir Hammelblut oft nicht zur Verfügung stand. Statt der doppelten Ambozeptormenge der Titerdosis erwies es sich mir vorteilhafter, eine  $2\frac{1}{2}$ - oder 3-fache Menge der Titerdosis zu verwenden; hierdurch traten die Differenzen zwischen den einzelnen Vibrionenarten deutlicher hervor.

Vibrio No. 21 läßt sich nach seinen geschilderten Eigenschaften in der Gruppe unterbringen, die Baerthlein von den choleraähnlichen Vibrionen gänzlich absondern und der *B. faecalis alcaligenes*-Gruppe anreihen will. Nur insofern besteht ein Unterschied gegenüber dem *Bac. faecalis alcaligenes*, daß Vibrio No. 21 eine, wenn auch schwache, positive Nitroso-Indolreaktion gibt.

Mutation. Der Schilderung der beim Vibrio No. 21 beobachteten Mutationserscheinungen soll die Bemerkung vorausgeschickt werden, daß



ich, diesen Ausdruck gebrauchend, hier der theoretischen Frage nicht näher zu treten wünsche, ob die auf äußere Einflüsse hervortretenden Eigenschaftsveränderungen, resp. das „plötzliche“ Auftreten neuer Eigenschaften bei den Bakterien mit Recht als „Mutation“ bezeichnet werden kann oder nicht. Allerdings hat sich dieser Ausdruck in der bakteriologischen Literatur derart eingebürgert, daß man ihn, trotz berechtigter Einwände, nicht mehr aus dem allgemeinen Gebrauche fortschaffen kann. Dies berücksichtigend, werde ich im folgenden den Ausdruck „Mutation“ für das Auftreten solcher Eigenschaften in Anspruch nehmen, die an den aus Faeces, bzw. Wasser gewonnenen originellen Kulturen nicht beobachtet wurden und die beim Gebrauch von den gewöhnlichen Züchtungsverfahren abweichender, teilweise auch bei den üblichen Züchtungsmethoden spontan auftreten und eine gewisse, wenn auch nur beschränkte, Beständigkeit aufweisen, indem sie sich manchmal auch nach vielfachen Nährbodenpassagen behaupten.

Wir kennen gegenwärtig mehrere Methoden, mit deren Hilfe beim *Cholera vibrio* Mutationserscheinungen hervorgerufen werden können.

Baerthlein konnte Mutationserscheinungen z. B. dadurch auslösen, daß er von älteren (wenigstens 8 Tage lang im Thermostaten bei 37° C gehaltenen) Bouillonkulturen auf Choleraagarplatten eine Aussaat machte.

Dasselbe gelang Bail, als er aus einer Aufschwemmung einer Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung, die 8 Tage lang bei 42° C im Thermostaten gehalten wurde, auf Agarplatten aussäte.

Eisenberg gelang es, durch häufig (täglich) wiederholtes Uebertragen der Cholerakeime von Agar- auf Agarplatten, Mutationsformen zu gewinnen.

Olsson beobachtete Mutationserscheinungen, indem er bei 120° C sterilisierten Dünger mit *Cholera vibrio* impfte, die Düngerkulturen in Panumsche Thermostaten bei 25, 20, 18, 16 und 14° C einstellte und dann von diesen auf Agarplatten zu verschiedenen Zeiten Austriche machte.

Ich arbeitete mit den von Baerthlein und Bail angewendeten Methoden, bei letzterer mit der Modifikation, daß die Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung nicht bei einer Temperatur von 42°, sondern bei 37° C bebrütet wurde.

Die besten Resultate erhielt ich mit letzterer Methode.

Außerdem wurden auch Kulturen, die 2—3-wöchentlich mehrere Passagen über gewöhnlichem Agar mitgemacht haben, auf Mutationserscheinungen untersucht.

Anfangs prüfte ich letztere hauptsächlich auf gewöhnlichem und alkalischem Agar. Letzterer erwies sich aber weniger geeignet wie der gewöhnliche Agar: wir fanden nämlich auf ersterem oft keine mutierenden Kolonien, obwohl solche zu gleicher Zeit auf gewöhnlichem (Ragit-)Agar in Erscheinung traten. Deshalb verwendete ich später den alkalischen Agar überhaupt nicht mehr.

Als ich mich dann später überzeugte, daß man mit dem Dieudonné-, Endo- und Drigalski-Conradischen Agar ebenfalls oft sehr gute Resultate erzielen kann, ja daß sich sogar einer oder der andere dieser Nährböden oft auch dann bewährt, wenn sich auf den übrigen gar keine oder nur unausgeprägte Mutationsformen entwickeln, habe ich auch diese Nährböden zum Studium der „Mutation“ herangezogen.

Bei dem *Wasservibrio* No. 21 erhielt ich aus einer Suspension, die mit einer 24-stündigen Agarkultur und 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung hergestellt und bei einer Temperatur von 37° C bebrütet, nach 6, 25, 35 und 60 Tagen auf gewöhnliche und Cholera-Agarplatten ausgesät wurde, nur runde, grau durchscheinende, also den aus Wasser gezüchteten ähnliche Kolonien.

Hingegen entwickelten sich aus einer 35 Tage lang bei 37° gehaltenen Bouillonkultur auf Ragitagarplatten 24 Stunden nach der Aussaat neben 1 mm breiten, runden, grau durchscheinenden, glatten Kolonien auch solche, die bei der makroskopischen Untersuchung in der Mitte weißlich und undurchsichtig erscheinen und unter dem Mikroskope zackigen Rand, einen durchscheinenden, peripherischen Teil und feingekörntes Zentrum zeigen. Diese Struktur ändert sich auch nach mehreren Tagen nicht.

Während die glatten Kolonien aus langen, dünnen, schwach gekrümmten Vibrionen bestehen, sieht man in den Ausstrichen von gekörnten Kolonien meistens kürzere, dickere und gerade Bazillen und nur wenige besser ausgeprägte Vibrionenformen.

Von den glatten Kolonien nach 5 Tagen auf Agarplatten übertragen, entwickelten sich wieder glatte, aus den gekörnten nur körnige Kolonien. Letztere erwiesen sich kompakter als die glatten, so daß sie in physiologischer Kochsalzlösung zu keiner homogenen Suspension zerrieben werden können und demnach eine Agglutination vortäuschen. Auch im hängenden Tropfen tritt diese Pseudoagglutination in Erscheinung.

Die 24-stündige Bouillonkultur der gekörnten Agarkolonien erscheint aber ebenso homogen, wie die gleichalterige Fleischwasserkultur der glatten Kolonien und wird von dem mit *Vibrio* 21 hergestellten Immunsrum ebensogut agglutiniert, wie die Bouillonkultur der glatten Kolonien. Hingegen zeigte sie keine Agglutination mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit normalem Kaninchenserum.

Es sei noch hervorgehoben, daß von einer Agarkultur, die im Laufe von 3 Jahren etwa 60 Passagen über gewöhnlichem Agar mitgemacht hatte, auf gewöhnliche Agar-, Endo-, Drigalski-Conradi- und Dieudonné-Platten ausgestrichen, gar keine Mutationsformen gewachsen waren.

*Vibrio* No. 21 hatte also in alten kochsalzwässrigen Aufschwemmungen, im Gegensatz zu den meisten übrigen, weiterhin zu beschreibenden Vibrionen, keine Mutationsformen gebildet; nur in älteren Bouillonkulturen, und auch aus diesen entwickelten sich bloß die primitivsten, gekörnten, mutierenden Kolonieförmigen.

## Fall II. *Vibrio* No. 266

wurde am 21. Juli 1915 aus den blutigen, dünnen Entleerungen eines im Békésabaer k. u. k. Reservespital gepflegten Soldaten gezüchtet. Aus derselben Stuhlprobe habe ich auch Flexnersche Dysenteriebazillen kultiviert. Dieser *Vibrio* verhält sich morphologisch, auch im hängenden Tropfen (er bewegte sich nämlich mückenschwarmartig), wie der Cholerakeim und besitzt, wie dieser, nur 1 Cilie.

In Bouillon und Peptonwasser ruft er starke Trübung hervor und bildet eine Kahmhaut.

Auf gewöhnlichem und alkalischem Schrägagar bildet er einen etwas dickeren und weniger durchscheinenden Belag als der Choleravibrio. Auf Agarplatten sieht man 24 Stunden nach der Aussaat 1—1½ mm breite, runde Kolonien, deren Zentrum im mikroskopischen Bilde feingekörnt und etwas dunkel, die Peripherie aber glatt und hell erscheint.

Auf der Gelatineplatte sind nach 24 Stunden nur mikroskopisch sichtbare, runde, gekörnte, helle und dunkle Kolonien zu beobachten. In Gelatineröhrchen ruft der *Vibrio* eine der Stichlinie entlang langsam fortschreitende, trichterförmige Verflüssigung hervor.

In Traubenzuckeragar schwaches Wachstum; keine Gasentwicklung.

Traubenzucker- und Milchsüßwasserbouillon wird in beiden Schenkeln der Gärkölbchen getrübt.

Milch säuert und koaguliert nach 5 Tagen.

Die Kartoffelkultur erscheint nach 24 Stunden als farbloser, feucht glänzender Belag, der später gelblich wird.

Lackmuspapier wird in 1 Tage rot und trübe und ist mit einer Kahmhaut bedeckt; nach 7 Tagen entfärbt sie sich, wird aber nach 3 Wochen wieder rot und behält diese Farbe auch nach 3 Monaten.

In Neutralrotagar weder Gasentwicklung, noch Farbenveränderung.

Loeffler I und II erleiden keine Veränderung im Aussehen.

Barsiekow I und Hetschsche Lösung wird rot und stark getrübt, Barsiekow II bleibt unverändert.

Auf Drigalski-Conradischen Platten zeigen sich 24 Stunden nach der Aussaat 1 mm breite, blaue, auf Endo-Agar fast farblose, runde, durchscheinende Kolonien.

Auf alkalischem Agar und Dieudonné'schen Platten ist das Wachstum wie beim Choleravibrio.

Blutserum wird nicht verflüssigt; es zeigt einen weißlichgelben Belag.  
In mit Rinder- oder Hammelblut gemischtem Agar starke Hämolyse.  
Nitrosoindolreaktion positiv.

Tierexperimente. Ein ausgewachsenes Kaninchen geht nach intravenöser Einspritzung einer  $\frac{1}{2}$  Oese Agarkultur innerhalb 16 Stunden zugrunde. Aus Milz, Leber und Herzblut auf Dieudonné-Platten ausgestrichen, entwickelten sich viele Vibrionenkolonien. Ein Meerschweinchen ist nach intraabdominaler Infektion einer  $\frac{1}{2}$  Oese einer 24-stündigen Agarkultur innerhalb 20 Stunden eingegangen. In dem serös-fibrinösen Exsudat fanden sich sehr zahlreiche, gut gekrümmte, choleraähnliche Vibrionen. Eine Taube erlag 19 Stunden nach Einspritzung einer  $\frac{1}{2}$  Oese Agarkultur in die Brustmuskulatur. Aus dem Muskelsaft entwickelten sich auf Dieudonné-Agar sehr zahlreiche, aus dem Herzblute wenige Vibrionenkolonien.

Agglutination und Komplementbindungsreaktion. Das Serum eines mit Vibrio No. 266 immunisierten Kaninchens agglutinierte den Ausgangsstamm noch in einer Verdünnung von 1:2000, Vibrio No. 386 bis zu einer Verdünnung von 1:200, die übrigen von mir isolierten Vibrionenstämme überhaupt nicht (Tabelle I). Nach Anwendung des Castellianischen Absättigungsverfahrens hat das Immunserum No. 266 weder den homologen, noch den Vibrio No. 386 agglutiniert.

Das Resultat der gekreuzten Agglutination legte die Vermutung nahe, daß Vibrio No. 266 dem Vibrio No. 386 näher verwandt ist als allen übrigen Vibrionen. Aber schon die Tatsache, daß Vibrio No. 386 nur bei verhältnismäßig schwacher Verdünnung agglutiniert wurde, mußte den Verdacht erwecken, daß es sich bloß um eine Mitagglutination handeln kann. Und auch das Resultat der Komplementbindungsreaktion (Immunserum No. 266 bindet Komplement nur mit dem homologen Vibrio, nicht aber mit Vibrio No. 386, s. Tabelle III) spricht für die Artverschiedenheit der soeben genannten Vibrionen, die noch außerdem durch folgende Eigenschaften voneinander differieren: 1) Vibrio No. 386 ruft in Lackmusmolke eine blaue, Vibrio No. 266 eine rote Farbenveränderung hervor. 2) Milch wird durch letzteren koaguliert, durch Vibrio No. 386 nicht. 3) Vibrio No. 266 gibt eine negative, Vibrio No. 386 eine positive Nitrosoindolreaktion. 4) Ersterer ist für Tauben pathogen, letzterer aber nicht. 5) Vibrio No. 386 bildet in Loefflerscher Malachitgrünlösung No. I eine Kahmhaut, Vibrio No. 266 aber nicht. 6) Blutserum wird von ersterem verflüssigt, von letzterem nicht. 7) Neutralrotagar wird von Vibrio No. 386 im oberen Teil aufgeheilt, von Vibrio No. 266 aber nicht.

Tabelle III.

Menge und Art des Serums	Komplement	Ergebnisse der Hämolyse										
		$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 21	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 266	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 277	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 301	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 324	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 386	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1012	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1287	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 75	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 78	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio cholerae
0,03	Immunserum No. 266	+++	0	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01		+++	0	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,003		+++	0	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,001		+++	+	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,03	Normal-Kan.-Ser.	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
—		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
—		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Mutation. Ältere (12-, 27-, 35-, 44-, 60-, 76-tägige) Bouillonkulturen, auf gewöhnlichem Agar ausgesät, lieferten keine mutierenden Kolonien. Hingegen entwickelten sich aus einer mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten

und 12 Tage lang bei 37° C gehaltenen Vibrionensuspension auf Ragitagarplatten nach 24 Stunden neben 1—1½ mm breiten, runden, glatten, grau durchscheinenden Kolonien ca. 3mal so viele, 1 mm breite, trockene, matte, weißliche, undurchsichtige, sehr kompakte Kolonien mit gezacktem Rande, die vom Nährboden nur mit Substanzverlust des letzteren gänzlich entfernt und zur homogenen Suspension nicht zerrieben werden konnten. Bei Lupen- und schwacher mikroskopischer Vergrößerung zeigen sie meistens netzförmige, dichte, dunkle Runzelung. Eine Kolonie ist radiär gerunzelt. Die Vibrionen beider Koloniefornien sind morphologisch dem Choleravibrio ähnlich. Von der radiär gerunzelten Kolonie im Alter von 8 Tagen auf frische Agarplatten überpflanzt, entwickelten sich wieder radiär gerunzelte Kolonien. Von derselben Kolonie, aber 13 Tage nach ihrer Anlegung, auf frische Agaroberfläche überimpftes Material lieferte nadelstichgroße, runde Kolonien, die schon 15 Stunden nach der Aussaat unregelmäßige Runzeln aufwiesen. Einzelne zeigen an ihrer Peripherie bei schwacher Vergrößerung einen dunklen, runden Wall mit etwas gezackten Rändern. Die 24-stündigen Kolonien sind meistens radiär gerunzelt, die Strahlen erreichen aber das Zentrum meistens nicht. 40 Stunden alte Kolonien haben einen Durchmesser von etwa 2 mm, heben sich stark ab, ihre Runzelung ist verwischt und die Oberfläche schon etwas glänzend. Aus 13 Tage alten glatten Kolonien auf frischen Agarplatten gemachte Oberflächenausstriche lieferten wieder nur glatte, helle Kolonien.

Von 22 Tage alter kochsalzwässriger Vibrionensuspension auf gewöhnlichem Agar ausgestrichen, hatten sich nach 18 Stunden nur spärliche, grau durchscheinende, helle, glatte, hingegen zahlreiche undurchsichtige, bis 1 mm breite Kolonien entwickelt, welche letztere meistens noch strukturlos erscheinen. Bei einzelnen hebt sich der gezackte Rand wallartig empor und zeigt sich im mikroskopischen Bilde dunkler, als der innere homogene Teil der Kolonie. Eine Kolonie ist radiär gerunzelt. — Zahlreiche 2-tägige Kolonien zeigen an der Peripherie radiäre Runzelung, in der Mitte erscheinen sie strukturlos; die übrigen Kolonien sind überall gekörnt.

41 Tage alte Vibrionensuspension in Kochsalzlösung auf gewöhnliche Agarplatten ausgesät, lieferte nur weißliche, dunkle Kolonien mit gezacktem Rande, die auch mehrere Tage lang keine Runzelung erlangten und nur gekörnt erschienen.

73 Tage alte kochsalzwässrige Vibrionenaufschwemmung, auf gewöhnliche Agarplatten ausgestrichen, ergab dunkle, undurchsichtige, gekörnte Kolonien, die teilweise eine radiäre Struktur aufwiesen; die Strahlen erreichten aber das Zentrum nicht.

Eine Agarkultur, die im Verlaufe 1 Jahres etwa 2-wöchentlich 1mal Passagen nur über gewöhnlichem Agar mitgemacht hatte, lieferte 1) auf alkalischen Agar überpflanzt, nur glatte, helle Kolonien, 2) auf gewöhnlichem Agar entwickelten sich 1—2 mm breite, runde Kolonien mit undurchsichtigem, grob gekörntem Zentrum und glattem, durchscheinendem peripherischen Teil. 3) Auf Dieudonné-Agar gingen neben zahlreichen grauen, glatten, runden, glänzenden sehr viele weißliche, platte, trockene, matte Kolonien an, die mikroskopisch grobe, netzartige Runzelung aufwiesen. Die glatten Kolonien bestanden aus mäßig dicken, weniger gekrümmten, lebhaft beweglichen Vibrionen, die runzeligen aus etwas längeren, dünneren, nur molekulare Bewegung und Pseudoagglutination zeigenden Vibrionen. 4) Auf Drigalski-Conradi-Agar wuchsen nach 24 Stunden 1—2 mm breite, blaue, runde, durchscheinende, 5) auf Endo-Agarplatten neben zahlreichen, fast farblosen, 1½—2½ mm breiten, rundlichen, glatten viele, 1—2 mm breite, tiefrote, rundlichen oder gebuchteten Rand besitzende Kolonien, an denen mikroskopisch entweder von dem Mittelpunkt ausstrahlende, dicke, dunkle Balken oder das Zentrum nicht erreichende, am inneren Ende kolbig verdickte, nach dem Rande zu zugespitzte dunkle Radien auffallen. Die Vibrionen der glatten Endo-Kolonien sind choleraartig, die runzeligen bestehen aus etwas längeren, weniger gekrümmten und blasser gefärbten Vibrionen.

Die Agarkultur, die im Laufe 1 Jahres 2-wöchentlich 1mal nur von Agarröhrchen zu Agarröhrchen fortgeimpft wurde, blieb so weit virulent, daß eine Normalöse von der Agarkultur, in die Bauchhöhle eingespritzt, ein ausgewachsenes Meerschweinchen innerhalb 12 Stunden tötete.

Ich untersuchte nun, ob die Tierpassage die Mutationerscheinungen dieses Vibrio irgendwie beeinflußt hatte. Das Resultat war folgendes:

Aus dem peritonealen Exsudate entwickelten sich auf gewöhnlichem Agar nach 24 Stunden sehr zahlreiche, 1—1,5 mm im Durchmesser messende, runde, glatte, helle Kolonien; nur eine einzige, ½ mm breite Kolonie mit gezacktem Rande zeigte sich im mikroskopischen Bilde grob gekörnt, dunkelbraun. Auf alkalischem und Dieudonné'schen Blutalkaliagar gingen nur glatte Kolonien auf.

Aus dem Herzblute des Meerschweinchens entwickelten sich auf gewöhnlichem Agar nach 24 Stunden zahlreiche, 1½—2 mm breite, runde, grau durchscheinende, helle und 2 weiße, im Durchmesser 1 mm messende Kolonien, die im mikro-

skopischen Bilde ein körniges, braunes Zentrum und einen dunkleren, etwas radiär gerunzelten, gezackten peripherischen Teil aufweisen. Die Vibrionen der gerunzelten Kolonien lassen sich ihrer Gestalt nach von denen der glatten und dem Cholera-vibrio nicht unterscheiden, besitzen keine selbständige, sondern nur ganz schwache molekulare Beweglichkeit und zeigen Pseudoagglutination. Die Vibrionen der glatten Kolonien bewegen sich sehr lebhaft.

Aus den geschilderten Untersuchungsergebnissen geht hervor, daß 1) die mutierende Fähigkeit des Vibrio No. 266 nicht nur nach Bebrütung in physiologischer Kochsalzlösung, sondern auch nach mehrmals, und zwar 2-wöchentlich 1mal wiederholten Agarpassagezüchtungen zum Ausdruck kam. 2) Die vom glatten Urtyp am meisten abstechenden, runzeligen, nach Eisenbergs Benennung „gewulsteten“ Kolonien gingen jedoch hauptsächlich auf mit jüngerer (12-tägiger) kochsalzwässriger Vibrionenaufschwemmung beimpften Platten an. 3) Je längere Zeit die Vibrionenaufschwemmung im Thermostaten verweilte, um so zahlreicher waren die mutierenden Formen gegenüber den glatten Kolonien, doch waren erstere meistens nicht gerunzelte, sondern nur gekörnte Kolonien. 4) Hingegen gelang es, aus älteren Bouillonkulturen kein einziges Mal mutierende Formen zu gewinnen, obgleich die Mutationspotenz des besprochenen Vibrio selbst unmittelbar nach einer Tierpassage, wenn auch stark reduziert, in Erscheinung trat. Es sei aber hervorgehoben, daß auch die in Bouillon längere Zeit gezüchteten Vibrionen, auf Agarplatten überpflanzt, nicht mehr gänzlich den primären (Ur-)Kolonien entsprechende Kulturen erzeugen: die Vibrionen letzterer besitzen nämlich keine selbständige Beweglichkeit und zeigen spontane Agglutination, wie die Vibrionen der sogenannten Mutationsformen.

### III. Fall. Vibrio No. 277

wurde aus den zusammengemischten Entleerungen mehrerer Kranken des Békéscsabaer Reservospitals gezüchtet, die wegen Vorkommens eines Cholerafalles, als Cholera-vibrio-nenträger verdächtig untersucht wurden. Die Untersuchung erfolgte 5 Tage später als bei dem vorhergehenden Falle.

Aus den mit Peptonwasser vermischten und 6 Stunden lang bei 37° C bebrüteten Faeces entwickelten sich auf Diendoné-Agar choleraähnliche Kolonien, die aber von hochwertigem Choleraserum (erhalten aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin) nicht agglutiniert wurden.

Der Vibrio zeichnet sich sonst durch folgende Eigenschaften aus:

Im hängenden Tropfen und gefärbt verhält er sich wie der Cholera-vibrio; er ist 1-geißelig.

In Bouillon und Peptonwasser starke Trübung und Kahmhautbildung.

Auf Gelatineplatten choleraähnliche, runde, grob gekörnte, dunkle Kolonien; in Gelatineröhrchen trichterförmige, langsame Verflüssigung.

Auf Schrägagar etwas dicker, lichtgrauer, feucht glänzender Belag. Auf Agarplatten entstanden 24 Stunden nach der Aussaat 1–1½ mm breite, runde, glatte, grau durchscheinende Kolonien. Die Agarkultur in einer die Platinöse ausfüllenden Menge erscheint gelblichbraun.

Traubenzuckeragar wird nicht vergärt.

Traubenzucker- und Milchezuckerbouillon trüben sich in beiden Schenkeln der Gärkölbchen.

Milch gerinnt nicht, wird aber gesäuert.

Auf Kartoffel farbloser, feucht glänzender Belag von typischen Vibrionen.

Lackmusalbe wird nach 24 Stunden rot, nur schwach getrübt und zeigt Kahmhautbildung. Nach 5 Tagen tritt Entfärbung ein. Nach 6 Wochen ist die Farbe rot, nach 3 Monaten blau.

Neutralrotagar wird im oberen Teil aufgehellt, die Aufhellung geht aber nicht so tief wie beim Vibrio No. 21.

Loeffler I wird etwas getrübt, an der Wand des Reagenzglases zeigt sich rissiges, am Boden reichliches, grünes Sediment.

Loeffler II blieb unverändert.

Barsiekow I, II und Hetschische Lösung werden stark getrübt und gerötet, ohne Gasentwicklung.

Auf Drigalski-Conradi-Platten blaue, runde, glatte, durchscheinende, auf Endo-Agar am Rande blasse, in der Mitte tiefrote, glänzende, mikroskopisch gekörnte Kolonien.

Auf Dieudonné-Agar sind die 24-stündigen Kolonien 1—2 mm breit, rund, glatt, dunkelgrau.

Gewöhnliches Blutserum wird stark, Loefflersches Blutserum schwach verflüssigt.

In mit Rinder- oder Hammelblut gemischtem Agar zeigt sich starke Hämolyse.

Nitrosoindolreaktion negativ.

Tierexperimente. Ein Kaninchen ging nach intravenöser Injektion einer  $\frac{1}{2}$  Oese bei 56° abgetöteter Agarkultur innerhalb 24 Stunden zugrunde. Ein Meerschweinchen wurde nach intraabdominaler Einverleibung einer  $\frac{1}{2}$  Oese lebender Agarkultur innerhalb 12 Stunden, eine Taube nach Injektion einer  $\frac{1}{2}$  Oese in den Brustmuskel nach 20 Stunden tot aufgefunden.

Agglutination. Das Serum eines mit Vibrio No. 277 immunisierten Kaninchens agglutinierte den homologen Vibrio noch in einer Verdünnung von 1:2000, die übrigen 9 Vibrionen aber überhaupt nicht (s. Tabelle I).

Komplementbindungsreaktion. Immunserum No. 277 fixierte in Verbindung mit dem homologen Vibrio das Meerschweinchenkomplement vollständig, mit den übrigen 9 Vibrionen aber nicht (s. Tabelle IV).

Tabelle IV.

No.	Menge und Art des Serums	Komplement	Ergebnis der Hämolyse											
			$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 21	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 266	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 277	$\frac{1}{2}$ Oese V. No. 301	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 329	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 386	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1012	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 75	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 78	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1287	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio	
1	0,03	0,05 Meer- schw.-Kopl. dgl. No. 277	+++	+++	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	
2	0,01		+++	+++	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	
3	0,003		+++	+++	++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	
4	0,001		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	
5	0,03	Normal- Kan.-Ser.	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	
6	0,01		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	
7	—		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	
8	—		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	

Da Vibrio No. 277 vom Krankenmaterial desselben Spitals herstammte wie Vibrio No. 266 und nur 5 Tage später eingesendet wurde als letzterer, so war Artgleichheit der beiden Vibrionenstämme zu erwarten.

Doch geht aus der obigen Beschreibung hervor, daß sie sich durch mehrere Eigenschaften voneinander unterscheiden, und zwar auf folgenden Nährböden: Loefflerscher Malachitgrünlösung I, Lackmusmolke, Barsiekow II, Kartoffel, weiterhin auch bezüglich der Nitrosoindolreaktion, der Agglutinations- und Komplementbindungsreaktion.

Es unterliegt daher keinem Zweifel, daß Vibrio No. 266 und 277 zwei verschiedenen Arten angehören.

Mutation. Nach Aussaat von 6 Tage alter, kochsalzwässriger Vibrionenaufschwemmung auf gewöhnliche Agarplatten entwickelten sich binnen 24 Stunden zum größten Teil  $1\frac{1}{2}$  mm breite, runde, glatte, glänzende, grau durchscheinende und etwa zum fünften Teil 1 mm breite, undurchsichtige, matt glänzende, gekörnte Kolonien mit gezacktem Rande und hier und da mit radiär gerunzelter Peripherie. An 2-tägigen Kulturen erscheinen die undurchsichtigen Kolonien teilweise im Randteil radiär gerunzelt, in der Mitte grobkörnig, teilweise zeigen sie wallartige, rundliche Prominenz, die bald konzentrisch, bald exzentrisch gelagert ist. An einzelnen

Kolonien ziehen von der mit zackig gerunzeltem Rand umgebenen, wallartigen Prominenz speichenartige Runzeln nach dem Zentrum hin. Manche Kolonien zeigen eine dunkle, netzige Zeichnung, nur der Rand erscheint glatt und durchsichtig.

11 Tage alte kochsalzwässrige Vibrionenaufschwemmung, auf Ragitagar ausgesät, lieferte 1–2 mm breite Kolonien, unter denen die größeren glatt, die kleinen teils radiär, teils netzig gerunzelt erscheinen und in den Agar derart hineinwachsen, daß die Kolonien vom Nährboden ganz nur mit dem oberflächlichen Teil des Agars zusammen entfernt werden konnten. Wurde aus einer 10 Tage alten, netzig gerunzelten Kolonie auf frische Agarplatten Aussaat gemacht, so entstanden schon nach 15 Stunden nadelspitzgroße, nach 4 Tagen bis 2 mm breite, undurchsichtige Kolonien, die im Zentrum grob gekörnt, am gebuchteten Rande aber durchscheinend waren. Einzelne Kolonien zeigten an der Peripherie radiär verlaufende, dunkle Balken.

25 Tage alte Vibrionensuspension in Kochsalzwasser, auf gewöhnliche Agarplatten abgeimpft, lieferte nach 15 Stunden bis 1 mm breite, größten-teils glatte, durchsichtige Kolonien. Einzelne winzige Kolonien zeigen mikroskopisch ein dunkles, fein gekörntes Zentrum und gefalteten, zackigen Rand. Nach 2 Tagen erscheinen letztere grob gekörnt. Nach 4 Tagen zeigt ca.  $\frac{1}{3}$  auch der ursprünglich glatten Kolonien eine trockene, runzelige, weißliche Oberfläche und im mikroskopischen Bilde radiär gelagerte, dunkle Balken, die an der Peripherie mittels dem Rande parallel verlaufenden Leisten verknüpft sind. Einzelne derart gebaute Kolonien besitzen kreissegmentförmige, netzartig gerunzelte Auswüchse.

Aus älteren (6-, 11-, 25-, 60-tägigen) Bouillonkulturen entwickelten sich auf gewöhnlichen Agarplatten keine Mutationsformen.

Von einer Kultur, die im Verlaufe 1 Jahres etwa 20 Agarpassagezüchtungen überstand, 1) auf Ragitagarplatten überpflanzt, entwickelten sich nach 24 Stunden zahlreiche helle, glatte und nur vereinzelte dunkle, körnige Kolonien; die letzteren zeigen nach 48 Stunden ein von hellen Streifen gebildetes Netz, das dunkel-graue, gekörnte, mosaikartige Felder umschließt. 2) Auf Dieudonné- und 3) Endo-Agar gingen nur glatte Kolonien an. 4) Hingegen wuchsen auf Drigalski-Conradi-Platten neben blauen, runden, durchscheinenden, 1–1 $\frac{1}{2}$  mm breiten Kolonien etwa 2mal so viele rötlich violette Kolonien mit einem Durchmesser von  $\frac{1}{2}$  mm, die mikroskopisch auffallend dunkel, undurchsichtig, grob gekörnt erscheinen und aus kleinen, wohlgekrümmten Vibrionen bestehen. Das beschriebene Aussehen änderte sich auch 24 Stunden später nicht.

Die aus 6 und 11 Tage alter kochsalzwässriger Suspension des Vibrio No. 277 innerhalb 48 Stunden auf gewöhnlichem Agar gewachsenen mutierenden Kolonien waren also größtenteils gerunzelt. Aus 25-tägiger Suspension gingen zwar anfangs nur grob gekörnte Kolonien an, vom 4. Tage angefangen erschienen aber auch diese meistens radiär gerunzelt. Von anderen Mutationsformen waren noch vorhanden: wallartig gewulstete, meistens kombiniert mit radiärer Runzelung aus 6-tägigen und netzförmige Runzelung aus 6, 11 und 25 Tage alten kochsalzwässrigen Suspensionen.

Es verdient hervorgehoben zu werden, daß die an einzelnen Kolonien beobachteten kreissegmentförmigen Auswüchse hier netzförmige Zeichnung aufwiesen, während solche Auswüchse bei Choleravibrionen gewöhnlich glatt erscheinen.

Erwähnenswert sind auch die Erscheinungen, die an den Vibrionen der glatten und runzeligen Kolonien im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparate wahrzunehmen sind. Die runzeligen (dunklen) Kolonien bestehen fast ausschließlich aus kleinen, wohl gekrümmten Vibrionen, die im hängenden Tropfen fast ausnahmslos unbeweglich erschienen. Hingegen sind die Vibrionen der glatten (hellen) Kolonien länger (bis 2mal so groß) dabei aber gekrümmt, und es zeigen sich unter ihnen zahlreiche, bis 10–15 Vibrionen lange, spirochätenartige, wellige Fäden, die teilweise segmentiert (also als Vibrionenketten) in Erscheinung treten. Im hängenden Tropfen bewegen sich die langen Vibrionenfäden oder -ketten entweder gar nicht oder nur träge, die kurzen Spirochätenformen und die Vibrionen dagegen meist sehr lebhaft. Diese



Unterschiede zwischen den Vibrionen der glatten und gerunzelten Kolonien äußern sich auch in den von denselben hergestellten Bouillonkulturen; es zeigt sich höchstens insofern eine Abweichung, daß auch in den Fleischwasserkulturen der gerunzelten Kolonien Spirochätenformen zu sehen sind, nur erscheinen letztere kürzer (4—5 Vibrionen lang), und daß die langen Spirochäten in der Bouillonkultur der glatten Kolonien ebenfalls lebhaft Bewegungen ausführen.

Es erhellt aus dieser Tatsache, daß selbst die hellen (glatten) Kolonien nicht mehr ganz den aus Faeces gezüchteten ursprünglichen Kolonien entsprechen.

Auch bezüglich des Agglutinationsphänomens läßt sich ein weiterer Unterschied erkennen. Die glatten Kolonien zeigen nämlich ausgeprägte spontane Agglutination in physiologischem Kochsalzwasser, obwohl die Agarkultur in Kochsalzwasser leicht und vollständig zerrieben werden kann. Es muß zugleich betont werden, daß die Agarkulturen nach den früheren Nährbodenpassagen in den ersten Monaten nur vom homologen Immunserum agglutiniert wurden.

Die runzeligen Kolonien ließen sich überhaupt nicht zur homogenen Suspension zerreiben und täuschten so natürlich auch eine Agglutination vor.

Die spontane Agglutination äußerte sich nicht nur in Agar-, sondern auch in Bouillonkulturen, was um so mehr bemerkenswert ist, da doch bei anderen Vibrionen auch die von runzeligen Kolonien hergestellte, 24-stündige homogene Bouillonkultur keine spontane Agglutination zeigte, sondern nur vom homologen Immunserum agglutiniert wurde.

Eine Kaninchenpassage genügte übrigens, um die normale Agglutinationsfähigkeit herzustellen. Ein junges, 970 g schweres Kaninchen ist nämlich nach abdominaler Injektion einer Normalöse Agarkultur innerhalb 12 Stunden eingegangen, und die aus dem peritonealen Exsudate gezüchteten Vibrionen wurden vom homologen Immunserum (No. 277) bis zur Titergrenze agglutiniert, zeigten aber weder mit den übrigen Vibrionensera noch mit normalem Kaninchenserum bzw. physiologischer Kochsalzlösung Agglutinationserscheinungen.

Von dem peritonealen Exsudate wurden, um den Einfluß der Tierpassage auf die Mutationsfähigkeit des *Vibrio* No. 277 zu prüfen, auf folgende Nährböden Ausstriche gemacht: 1) Auf von Drigalski-Conradi-Agar wuchsen nur blaue, glatte Kolonien. 2) Auf Endo-Agar entwickelten sich nach 24 Stunden zahlreiche, 1½—2 mm breite, glänzende, am Rande blasse, in der Mitte tiefrote, fein gekörnte und zwei 1 mm breite, trockene, in ihrer ganzen Ausdehnung tiefrote Kolonien, welche letztere vom Zentrum bis an den Rand reichende, radiäre, dunkle Runzelung zeigten; der Rand und die zwischen den Runzelstrahlen liegenden Felder waren hell und durchscheinend. Nach 48 Stunden war der Rand dunkel, gezackt, die Runzelung verschwommen. Die glatten Kolonien bestanden hauptsächlich aus mittellangen, teilweise etwas längeren, die gerunzelten aus kleinen, gut gekrümmten, sich schwach färbenden Vibrionen. 3) Auf gewöhnlichem Agar entwickelte sich neben zahlreichen hellen, glatten nur eine einzige kleine, glanzlose, grob gekörnte Kolonie, deren Rand dunkel und gezackt erschien. Die Vibrionen dieser Kolonie waren ebenfalls klein. 4) Auf alkalischem Agar kamen nur glatte, helle Kolonien zur Entwicklung. 5) Die meisten mutierenden Kolonien gingen auf Dieudonné-Agar an. Die glatten, 1—1½ mm breiten Kolonien waren zwar auch hier in der Uebersahl, doch gelangten schon nach 24 Stunden viele, bis 3 mm breite, rundliche, trockene, auffallend platte Kolonien zur Entwicklung, die eine dichte netzige Runzelung aufwiesen. Die Vibrionen der gerunzelten Kolonien zeigten sich auch hier kleiner und blasser gefärbt als die der glatten Kolonien.

Es sei noch bemerkt, daß, wenn wir mit dem peritonealen Exsudat zuerst Peptonwasser beimpften und erst nach Anreicherung in diesem auf Dieudonné-Agar Ausstriche machten, wir keine mutierenden Kolonien entdecken konnten.

Der Dieudonnésche Blutalkaliagar hat sich also diesmal zur Darstellung der mutierenden Kolonien am besten bewährt. Der Wert dieses Nährbodens wird dabei durch die vom Blute bedingte dunkle Farbe und verminderte Durchsichtigkeit nicht beeinträchtigt, denn trotz dieser Nachteile kann die Struktur der Kolonien mikroskopisch ganz gut beobachtet werden.

#### IV. Fall. *Vibrio* No. 301

Ist aus dem Wasser des Zagyaflusses, bei der Gemeinde Jászalsószentgyörgy, geschöpft und nach Anreicherung in Peptonwasser auf Dieudonné-Agar reingezüchtet worden.

Form, Größe, Färbbarkeit, Beweglichkeit und Cilienzahl wie beim Choleraerreger. In Bouillon Trübung mit Kahmhautbildung.

Auf gewöhnlichem Schrägagar weißlichgrauer, durchscheinender Belag. Auf Agarplatten 1 mm breite, runde, tautropfenähnliche Kolonien. Die Agarkultur hat in der Menge einer vollen Platinöse gelblichbraune Farbe.

Auf Gelatineplatten erscheinen 24 Stunden nach der Aussaat fast nur mikroskopisch sichtbare, helle, feingekörnte und etwas größere, grobkörnige, dunkle Kolonien. In Gelatineröhrchen langsame trichterförmige Verflüssigung.

In Traubenzuckeragar wird kein Gas entwickelt.

Traubenzucker- und Milchzuckerbouillon trübt sich in beiden Schenkeln der Gärkölbchen.

Milch gerinnt auch nach 10 Tagen nicht, reagiert aber sauer.

Kartoffelkultur erscheint als farbloser, feucht glänzender Belag.

Lackmusmolke wird nach 24 Stunden rot und trübe; nach 3 Tagen fast entfärbt, ist sie am 6. Tage wieder rot und bewahrt diese Farbe auch nach 3 Monaten.

Neutralrotagar wird im oberen Teile etwas aufgehellt.

Loeffler I emulsionartig getrübt, zeigt rissige Niederschläge an der Wand des Reagenzglases und reichliches, grünes Sediment. Loeffler II unverändert.

Barsiekow I zeigt starke Trübung mit reichlichem Gerinnsel ohne Gasentwicklung. Barsiekow II und Hetschsche Lösung werden nur etwas trübe, verändern aber die Farbe nicht.

Auf Drigalski-Conradi-Platten  $1\frac{1}{2}$  mm breite, runde, blaue, glatte, glänzende, auf Endo-Agar 1 mm breite, am Rande blaßrosafarbige, im Kern rote, durchscheinende Kolonien.

Auf Dieudonné-Agar  $1\frac{1}{2}$ —2 mm breite, runde, choleraähnliche Kolonien.

In Rinder- und Hammelblutagar starke Hämolyse.

Nitrosoindolreaktion positiv.

Tierexperimente. Ein Meerschweinchen ging nach intraperitonealer Injektion einer  $\frac{1}{2}$  Oese Agarkultur innerhalb 20 Stunden zugrunde, eine Taube 50 Stunden nach Einspritzung einer  $\frac{1}{2}$  Oese Agarkultur in die Brustmuskulatur. Im fahlgelben, nekrotischen Muskelgewebe fanden sich sehr zahlreiche kurze Vibrionen, und aus dem auf alkalischem Agar ausgestrichenen Herzblute gingen sehr viele, tautropfenähnliche Kolonien an.

Agglutination. Das Serum eines mit *Vibrio* No. 301 immunisierten Kaninchens agglutinierte nur den homologen *Vibrio* (s. Tabelle I), den Cholerakeim und die übrigen von mir gezüchteten Vibrionen aber nicht.

Das Resultat der Komplementbindungsreaktion kann in diesem Falle nicht verwertet werden, da *Vibrio* No. 301 für sich allein, also auch ohne Immunserum, Komplement bindet.

Der Wasservibrio No. 301 unterscheidet sich also von dem anderen Wasservibrio No. 21 wesentlich, und zwar auf mehreren Nährböden (Gelatine, Lackmusmolke, Loeffler I, Barsiekow I, Blutserum), dann durch die Zahl der Cilien, durch seine Pathogenität und die Agglutination und Komplementbindungsreaktion.

Durch seine Pathogenität für Meerschweinchen und Tauben ist er, wie auch *Vibrio* No. 266 und 277, mit *Vibrio* Metschnikoff verwandt, doch unterscheidet er sich von *Vibrio* No. 266 dadurch, daß er Milch nicht zur Gerinnung bringt, in Loeffler I emulsionartige Trübung, in Hetschscher Flüssigkeit Rötung hervorruft, Blutserum verflüssigt und nur vom Immunserum No. 301 agglutiniert wird.

Vom *Vibrio* No. 277 unterscheidet sich *Vibrio* No. 301 durch sein Verhalten in Lackmusmolke, durch den verschiedenen Ausfall der Nitroso-indolreaktion und der Agglutination.

Bemerkenswert ist noch, daß *Vibrio* No. 301 als einziger unter den von mir isolierten Vibrionen dasteht, der Komplement auch ohne Zufügung von Immunserum bindet.

**Mutation.** Die Aussaat von 35 und 44 Tage alten Bouillonkulturen auf gewöhnliche Agarplatten ergab nur glatte, helle Kolonien.

Nach Ausstrichen von 6 Tage alter kochsalzwässriger Aufschwemmung auf gewöhnlichem Agar entwickelten sich in 1 Tage zahlreiche, 1—1½ mm breite, graue, durchscheinende und fast ebenso viele weißliche, undurchsichtige, gekörnte Kolonien, mit glattem Rand. Die 2-tägigen Kolonien haben einen Durchmesser bis 3 mm erreicht. Es finden sich aber auch 3 größere (6—7 mm breite) Kolonien von unregelmäßiger Form, mit gebuchtetem, wallartig hervorragendem, fein gestrahltem Rande. Am 4. Tage zeigt eine von den 3 großen Kolonien stark ausgeprägte dunkle, netzige Runzelung.

Aus einer 25 Tage alten kochsalzwässrigen Suspension gemachte Aussaat auf gewöhnlichem Agar hatte meistens die Entwicklung glatter, heller und nur weniger dunklen, undurchsichtigen, grob gekörnten Kolonien zur Folge. Runzelige Formen wurden diesmal nicht beobachtet. Im hängenden Tropfen zeigten die Vibrionen auch der glatten, hellen Kolonien keine selbständige Beweglichkeit.

Ausstriche auf Drigalski-Conradi-, Endo-, Dieudonné- und gewöhnlichem Agar von einer Kultur, die während eines Jahres 2—3-wöchentlich 1mal fortgeimpft wurde und etwa 20 Agarpassagen durchgemacht hatte, lieferten keine mutierende Kolonien.

Aus einer solchen Agarkultur rief 1 Oese, einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt, den Tod schon innerhalb 12 Stunden herbei. Aus dem peritonealen Exsudat entwickelten sich auf Ragitagarplatten zahlreiche, bis 2 mm breite, runde, dunkel gekörnte und wenige dünnere, durchscheinende, helle Kolonien. Die Vibrionen sowohl der hellen wie der dunklen Kolonien ließen keine Eigenbewegung erkennen. Auf Dieudonné-Agar wuchsen glatte, runde, fein gekörnte, graue Kolonien, auf Drigalski-Conradi-Platten wenige 1½ mm große, durchscheinende und viele 2 mm breite, undurchsichtige, blaue Kolonien. Erstere bestanden aus längeren und dünnen, letztere aus mittellangen und mäßig dicken Vibrionen. Auf Endo-Agar entwickelten sich wenige 1 mm breite, am Rande blaßrosafarbige, in der Mitte tiefrote Kolonien, die aus länglichen, dünnen, aber gekrümmten, gleichmäßig, aber blaß gefärbten Vibrionen bestanden, außerdem zahlreiche, bis 2 mm breite, intensiv rote Kolonien, die mittellange, etwas dickere, ungleichmäßig, aber gut färbbare, wohlgekrümmte Vibrionen enthielten.

Sowohl die dünneren (durchscheinenden) wie die dickeren (undurchsichtigen) Kolonien wurden gleichmäßig vom homologen Immunserum (No. 301) agglutiniert, von den übrigen Vibrionensera aber nicht.

Es entwickelten sich also auf den Nährböden unmittelbar nach der Tierpassage Kolonien, die an der Grenze zwischen dem glatten Urtyp und den Mutationsformen stehen. Bemerkenswert ist dabei, daß die während der wiederholten Nährbodenpassagen verloren gegangene selbständige Beweglichkeit des *Vibrio* No. 301 durch die Tierpassage nicht regeneriert wurde, vielleicht deshalb, weil das Tier nach der Impfung nur zu kurze Zeit (nicht einmal 12 Stunden lang) lebte.

Endlich sei noch erwähnt, daß die aus kochsalzwässriger Suspension zur Entwicklung gelangten Mutationskolonien in überwiegender Zahl gekörnt waren; nur eine große Kolonie mit gebuchtetem, wallartig prominierendem Randteil war netzartig gerunzelt.

#### V. Fall. *Vibrio* No. 324

wurde am 9. August 1915 aus den reiswasserähnlichen Entleerungen eines choleraverdächtigen, 56-jährigen Tagelöhners von Füzesgyarmat (Komit. Békés) gezüchtet.

Im Ausstrichpräparat der Peptonwasservorkultur sah ich keine Vibrionen und auch auf mit Peptonwasserkultur beimpftem alkalischen Agar gingen keine Vibrionenkolonien

an. Hingegen entwickelten sich auf Dieudonné-Agar unmittelbar aus den Faeces reichliche, choleraähnliche Kolonien, die aber von einem Choleraserum (Titer 1:25 000) nicht agglutiniert wurden.

Die Form, Größe, Färbbarkeit, Beweglichkeit, Cilienzahl des Vibrio No. 324 ist wie beim echten Choleraerreger.

Sein Verhalten auf den verschiedenen Nährböden ist folgendes:

Bouillon zeigt starke Trübung mit Kahmhautbildung und hat einen intensiv fäkulenten Geruch.

Auf Schrägagar erscheint das Wachstum in Form eines dicken, grauweißen, fäkulent riechenden Belages. Auf gewöhnlichen Agarplatten finden sich 24 Stunden nach der Aussaat 1 mm breite, graue, wenig durchscheinende, feucht glänzende Kolonien. Die Agarkultur, in Menge einer vollen Oese betrachtet, ist von weißer Farbe.

Auf Gelatineplatten wachsen choleraähnliche, gekörnte, aber etwas hellere, verflüssigende Kolonien. In Gelatineröhrchen schreitet die Verflüssigung nicht trichterförmig, sondern zylindrisch weiter.

Traubenzuckeragar wird nicht vergärt.

Traubenzucker- und Milchsuckerbouillon wird in beiden Schenkeln der Gäröhrchen trübe.

Die Kartoffelkultur erscheint als gelblichbrauner, feucht glänzender Belag.

Lackmusmolke verändert sich in den ersten 24 Stunden nicht, nach 2 Tagen wird sie tiefblau und trübe, nach 3 Wochen und 3 Monaten ist sie blautrot.

Neutralrotagar wird im oberen Teil etwas aufgehellt.

Loeffler I zeigt Niederschläge an der Wand der Reagenzöhrchen und reichlichen grünen Bodensatz; dabei ist die Flüssigkeit durchsichtig, blaßgrün. Loeffler II unverändert.

Barsiekow I und II werden trübe und rot, Hetschke Lösung bleibt in den ersten 24 Stunden unverändert, nach 2 Tagen wird sie rot und zeigt Gerinnelbildung.

Auf Drigalski-Conradi-Agar lassen sich nach 24 Stunden 1 mm lange, rötlichviolette, runde, durchscheinende Kolonien unterscheiden, die 3—4 Tage später am Rande blaviolette, im Zentrum aber dunkelrotviolette Farbe haben.

Auf Endo-Agar sind die Kolonien nach 1 Tage 1 mm, nach 3—4 Tagen bis 4 mm breit; ihr Zentrum ist tiefrot, der Rand blaß, fast farblos.

Gewöhnliches und Loefflersches Blutserum wird verflüssigt.

In 10-proz. Rinder- und Hammelblutagar starke Hämolyse.

Nitrosoindolreaktion schwach positiv.

Tierexperimente. Eine  $\frac{1}{5}$  Oese 24-stündiger Agarkultur, in die Bauchhöhle gespritzt, tötete ein gut ausgewachsenes Meerschweinchen schon innerhalb 10 Stunden. Für Tauben erwies sich dieser Vibrio nicht pathogen.

Agglutination. Vibrio No. 324 wurde nur vom homologen Serum bis zur Verdünnung von 1:1500 agglutiniert (s. Tabelle I).

Komplementbindungsreaktion. Vibrio No. 324 bindet Meerschweinchenkomplement nur mit dem homologen Serum vollständig (s. Tabelle V).

Tabelle V.

Nage und Art des Serums	Komplement	Ergebnisse der Hämolyse											
		$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 21	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 266	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 277	$\frac{1}{5}$ Oese V. No. 301	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 324	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 386	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 1012	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 1287	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 75	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio No. 78	$\frac{1}{5}$ Oese Vibrio cholerae	
3 11 13 101 132 11	Immun- serum No. 324	0,05 Meer- schw.-Kopl. dgl.	+++	+++	+++	0	0	+++	+++	+++	+++	+++	
		+++	+++	+++	0	0	+++	+++	+++	+++	+++		
		+++	+++	+++	0	+	+++	+++	+++	+++	+++		
		+++	+++	+++	0	++	+++	+++	+++	+++	+++		
		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
11 — — —	Normal- Kan. Ser.	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Vibrio No. 324 unterscheidet sich von den übrigen 9 Vibrionen nicht nur durch Agglutination und Komplementbindungsreaktion, sondern auch durch fäkulenten Geruch, durch rotviolette Farbe seiner Kolonien

auf Drigalski-Conradi-Agar, ferner durch zylindrische Verflüssigung in der Gelatinestichkultur. Von den vorher beschriebenen 3 pathogenen Vibrionenarten unterscheidet er sich auch dadurch, daß er für Tauben keine Pathogenität aufweist.

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß *Vibrio* No. 324 als eine von den übrigen 9 Vibrionen wesentlich verschiedene, selbständige Art zu betrachten ist.

**Mutation.** 6, 20, 25, 30 und 67 Tage alte kochsalzwässrige Vibrionenaufschwemmung, auf gewöhnlichem Agar ausgestrichen, ergab keine mutierenden Kolonien.

Hingegen entwickelten sich 24 Stunden nach der Aussaat von einer 35 Tage alten Bouillonkultur auf gewöhnlichem Agar neben zahlreichen 1 mm breiten, hellen, glatten Kolonien viele weißliche, undurchsichtige, grob gekörnte Kolonien, welche letztere aus längeren und kürzeren, fast geraden Bazillen bestehen und nur wenige typische Vibrionen aufweisen, während die hellen Kolonien von choleraähnlichen Vibrionen gebildet werden. Die beiden Kolonieförmigkeiten verhalten sich sonst auf allen anderen Nährböden gleichartig. Die dunkle Form zeigt aber spontane Agglutination, während die helle nur vom homologen Serum agglutiniert wird. Unter den Vibrionen der dunklen Kolonien sieht man kaum bewegliche, die hellen Kolonien dagegen bestehen fast nur aus lebhaft beweglichen Vibrionen.

Die spontane Agglutination der dunklen Kolonien verschwindet nach ihrer Erwärmung auf 80° nicht, während die hellen, auf 80° erwärmt, nicht mehr vom homologen Serum agglutiniert werden.

Die dunklen Kolonien geben, in Bouillon überimpft, eine homogene Kultur, die ebenso wie die aus einer hellen Kolonie bereitete Bouillonkultur, nur vom Immunsérum No. 324 agglutiniert wird.

Nach Aussaat von einer Agarkultur, die während eines Jahres etwa 20mal von Agar zu Agarröhrchen fortgeimpft wurde, entwickelten sich auf 1) gewöhnlichem und 2) Dieudonné-Agar bloß helle, glatte Kolonien. 3) Auf Drigalski-Conradi-Platten hingegen ließen sich vom 4. Tage ab neben hellen auch dunkle Kolonien wahrnehmen, die teilweise eine dunkle, dichte, netzförmige Fältelung aufwiesen; andere zeigten verschieden dicke, bald dicht, bald spärlich gelagerte, wellige Balken, die von einem ziemlich breiten Kern ausstrahlten. 4) Auf Endo-Agar entwickelten sich in den ersten 24 Stunden 1 mm, nach 3—4 Tagen bis 4 mm breite, runde Kolonien, die einen tiefroten Kern und fast farblosen Saum besitzen. Sowohl vom letzteren, wie von dem roten Kern gemachte Aussaaten auf gewöhnlichem Agar hatten nur die Entwicklung von hellen, glatten Kolonien zur Folge.

*Vibrio* No 324 verhält sich auch bezüglich seiner Mutationserscheinungen anders als die bisher geschilderten pathogenen Vibrionen: 1) Aus mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Vibrionenaufschwemmungen verschiedenen Alters konnten wir keine mutierenden Kolonien erhalten. [Es darf hier aber nicht verschwiegen werden, daß ich in der ersten Periode meiner Untersuchungen hauptsächlich mit gewöhnlichen Agarplatten arbeitete; es ist daher nicht die Möglichkeit auszuschließen, daß vielleicht auf einem anderen festen Nährboden doch mutierende Kolonien gewachsen wären.] 2) Mit einer Agarkultur nach etwa 20 Agarpassagezüchtungen in 1 Jahre konnten Mutationserscheinungen nur auf Drigalski-Conradi-Agar ausgelöst werden.

Es ist noch hervorzuheben, daß auf gewöhnlichem Agar nur gekörnte, auf Drigalski-Conradi-Platten aber auch netzförmig und radiär gerunzelte Kolonien zur Entwicklung kamen; letztere erhielten aber diese Beschaffenheit nur vom 4. Tage an.

#### VI. Fall. *Vibrio* No. 386

habe ich aus den reiswasserähnlichen, aber fäulent riechenden Entleerungen eines 58 Jahre alten Drescharbeiters am 23. August 1915 auf Dieudonné-Agar reingezüchtet.

Form, Größe, Färbbarkeit, Beweglichkeit und Cilienzahl wie beim Cholera-vibrio.

In Bouillon ruft der *Vibrio* gleichmäßige Trübung herbei.

Auf Schrägagar bildet er einen etwas dicken, grauweißen Belag. Auf gewöhnlichen Agarplatten wächst er in Form von 1—1,5 mm breiten, runden, grauen, durchscheinenden Kolonien. Die Agarkultur sieht in der Menge einer Oese gelblich-braun aus.

Auf Gelatineplatten bringt er runde, helle und dunkle, gekörnte Kolonien hervor. In Gelatineröhrchen zeigt sich trichterförmige Verflüssigung.

In Traubenzuckeragar keine Gasbildung.

Traubenzucker- und Milchzuckerbouillon in beiden Schenkeln der Gärkölbchen getrübt.

Milch wurde selbst nach 10 Tagen nicht zur Gerinnung gebracht.

Kartoffelkultur erscheint als dünner, blaßgelber Belag.

Lackmuskolke wird nach 24 Stunden etwas rot, bleibt durchsichtig und zeigt schwache Kahlhautbildung; nach 48 Stunden wird sie blau; nach 5 Tagen blaßrot, am 7. Tage ist sie entfärbt, nach 3 Wochen erscheint sie wieder rot, nach 3 Monaten blaurot.

Neutralrotagar wird im oberen Teil etwas aufgehellt.

Loeffler I stark getrübt, mit wenigem grünen Sediment und ausgesprochener Kahlhaut, die aus Vibrionen besteht. Loeffler II unverändert.

Barsiekow I und Hetschkes Gemisch rötet und trübt sich. Barsiekow II wird auch rot, bleibt aber durchsichtig.

Auf Dieudonné und Kochschem Choleraagar choleraähnliches Wachstum.

Gewöhnliches und Loefflersches Blutserum werden stark verflüssigt.

In Hammelblut- und Rinderblutagar starke Hämolyse.

Nitrosoindolreaktion positiv.

Tierversuche. Ein Meerschweinchen ging nach Einspritzung einer  $\frac{1}{2}$  Oese Agarkultur in die Bauchhöhle innerhalb 10 Stunden ein. Im peritonealen, serösen Exsudat fanden sich sehr zahlreiche kurze und längere Vibrionen, wenige polynukleäre, mehr mononukleäre Phagocyten, mit Vibrionen vollgestopft. Für Tauben erwies sich auch dieser *Vibrio* als nichtpathogen.

Agglutination. Das Serum eines mit *Vibrio* No. 386 vorbehandelten Kaninchens agglutinierte den homologen *Vibrio* bis zu einer Verdünnung von 1:2000; mit den übrigen 9 Vibrionen und dem Cholerakeim fiel die Agglutination negativ aus (s. Tabelle I).

Eine positive Komplementbindungsreaktion zeigte dieses Serum ebenfalls nur mit *Vibrio* No. 386 (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Serum und Art	Komplement	Ergebnis der Hämolyse											
		$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 21	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 266	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 277	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 301	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 324	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 386	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1012	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 75	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 78	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio No. 1287	$\frac{1}{2}$ Oese Vibrio cholerae	
Immun- serum No. 386	0,05 Meer- schw.-Kopl. dgl.	+++	+++	+++	0	+++	0	+++	+++	++	+++	++	
	"	+++	+++	+++	0	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	
	"	+++	+++	+++	0	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	
	"	+++	+++	+++	0	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	
Normal- kan.-Ser.	"	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	"	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	"	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	"	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
—	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Dieser *Vibrio* zeichnet sich, abgesehen davon, daß er sich durch Agglutination und Komplementbindungsreaktion von den beiden übrigen Vibrionen unterscheidet, noch dadurch aus, daß er in Loefflerscher Malachitgrünlösung I Kahlhaut bildet, eine Erscheinung, die ich nur bei diesem *Vibrio* beobachtet habe.

Mutation. Aus 12 Tage alter kochsalzwässrigen Vibrionenaufschwemmung auf Agarplatten ausgestrichen, bildeten sich anfangs nur helle, glatte Kolonien, nach

3 Tagen aber waren nur 2 glatte, bis 3 mm breite, runde, dagegen zahlreiche 2—3 mm große Kolonien mit 1—1½ mm breitem, glattem, durchscheinendem Zentrum und konzentrisch geschichtetem, strahlig gefaltetem, undurchsichtigem, peripherischen Anteil bemerkbar. Die Vibrionen der glatten und gerunzelten Kolonien unterscheiden sich nur dadurch, daß sich letztere meistens blasser färben.

Von einer 4 Tage alten, konzentrisch geschichteten Kolonie auf gewöhnliche Agarplatten überpflanzt, ging nach 2 Tagen unter 10 Kolonien 1 mit strahlig gerunzeltem Saum und netzförmig gefaltetem inneren Teil an; die übrigen Kolonien blieben glatt.

Aus 20 Tage alter kochsalzwässrigen Vibrionensuspension auf gewöhnlicher Agarplatte gewachsene Kolonien blieben in den ersten 48 Stunden hell und glatt. Am 3. Tage bemerkte ich an einer solchen, 3 mm breiten Kolonie einen 1 mm langen, 2 mm breiten, netzartig gerunzelten, kreissegmentförmigen Sproß, der aber am 7. Tage keine Fältelung mehr zeigte. Am 6. Tage erschienen alle Kolonien konzentrisch geschichtet, glänzend, dunkelbraun, gekörnt. Vereinzelte Kolonien zeigten glatte, helle, durchscheinende, kreissegmentförmige Sprossen.

25 Tage alte kochsalzwässrige Kulturen lieferten im Ausstrich auf gewöhnlichem Agar nach 15 Stunden größtenteils glatte, helle, runde, zum 3. Teil aber zackige, dunkle, grob gekörnte Kolonien, die nach 3 Tagen und auch noch später keine Fältelung aufwiesen.

Aus älteren Bouillonkulturen erhielten wir keine Mutanten; ebenso wenig gelang es, solche zu erzeugen, wenn wir aus einer Kultur, die im Verlaufe eines Jahres etwa 20mal von Agar- zu Agarröhrchen fortgeimpft wurde, auf gewöhnlichem Agar, Drigalski-Conradi, Endo- und Dieudonné-Platten Ausstriche machten.

*Vibrio* No. 386 zeichnet sich also gegenüber den bisherigen Vibrionen dadurch aus, daß er teilweise konzentrisch geschichtete Kolonien bildet, und daß von einer glatten Kolonie ein netzig gerunzelter, kreissegmentförmiger Sproß ausging.

## VII. Fall. *Vibrio* No. 1012

wurde aus den normal aussehenden Faeces einer gesunden Frau, die mit einem Cholera-kranken verkehrte, am 6. Okt. 1915 isoliert.

Der *Vibrio* ist etwa 2mal so lang wie der Choleraerreger, dabei ist er aber deutlich gekrümmt, bewegt sich mückenschwarmartig und besitzt nur 1 Cilie.

Auf den verschiedenen Nährböden zeigt er 24 Stunden nach der Aussaat folgendes Verhalten:

Auf Schrägagar dünner, grau durchscheinender Belag. Auf gewöhnlichen Agarplatten 1—1½ mm breite, runde, grau durchscheinende, glatte Kolonien mit weißlichem Kern. Die Agarkultur, in der Menge einer vollen Oese betrachtet, erscheint grauweiß.

Auf Gelatineplatten zeigen sich nur mikroskopisch sichtbare, körnige, runde Kolonien, die heller erscheinen, wie beim Choleraerreger. In Gelatineröhrchen trichterförmige Verflüssigung.

In Traubenzuckeragar keine Gasbildung. Traubenzucker- und Milchsuckerbouillon in beiden Schenkeln der Gärröhrchen stark getrübt.

Die Kartoffelkultur ist mit unbewaffnetem Auge nicht bemerkbar; mit der Platinöse läßt sich aber von der Oberfläche leicht Material abschaben, in welchem die Vibrionen sehr zahlreich vorhanden sind.

Milch nach 6 Tagen geronnen, reagiert amphoter.

Lackmusmolke wird nach 24 Stunden rot, bleibt aber durchsichtig und zeigt keine Kahlhautbildung. 3 Wochen später entfärbt sie sich; nach 3 Monaten zeigte sie eine bläulichrote Farbe.

Neutralrotagar im oberen Teil etwas aufgehellt.

Loeffler I trübt sich und weist reichliches grünes Sediment auf. Loeffler II unverändert.

Barsiekow I und Hetschesche Lösung etwas getrübt und rot. Barsiekow II weder getrübt noch Farbe verändert.

Auf Drigalski-Conradi-Platten 1—1½ mm breite, runde, blaue, durchscheinende, auf Endo-Agar 1—2 mm im Durchmesser haltende, rote Kolonien.

Auf Dieudonné-Agar choleraähnliches Wachstum.

Gewöhnliches Blutserum wird verflüssigt, Loeffler-Serum aber nicht.

In Hammelblut- und Rinderblutagar starke Hämolyse.

Tierversuche. Für Meerschweinchen und Tauben erwies sich der *Vibrio* No. 1012 als nichtpathogen.



**Agglutination.** Das Serum eines mit *Vibrio* No. 1012 immunisierten Kaninchens agglutiniert die zur Immunisierung verwendete Kultur bis zu einer Verdünnung von 1:2000, den Choleraerreger und unsere übrigen 9 Vibrionen auch bei schwacher (1:10) Verdünnung nicht (s. Tabelle I).

Die Komplementbindungsreaktion erwies sich nur mit dem homologen *Vibrio* positiv (Tabelle VII).

Tabelle VII.

Menge und Art des Serums	Komplement	Ergebnis der Hämolyse										
		$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 21	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 266	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 277	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 301	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 324	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 386	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 1012	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 1287	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 75	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> No. 78	$\frac{1}{5}$ Oese <i>Vibrio</i> cholerae
0,03	0,05 Meer-	+++	+++	+++	0	++	+++	0	++	+++	+++	+++
0,01	Immun-	+++	+++	+++	0	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++
0,003	serum	+++	+++	+++	0	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++
0,001	No. 1012	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,03	Normal-	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,01	Kan.-Ser.	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
—	„	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
—	„	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*Vibrio* No. 1012 kann unter den 9 von mir isolierten Vibrionen, wegen Mangels an Pathogenität, nur mit *Vibrio* No. 21 verglichen werden. Er unterscheidet sich aber sonst von ihm viel mehr als von allen übrigen Vibrionen, nämlich durch die Cilienzahl, auf den meisten Nährböden (Bouillon, Gelatine, Milch, Traubenzucker- und Milchezuckerbouillon, Lackmusmolke, Barsiekow I und Hetsch'sche Lösung, Blutserum, Blutagar), wie auch durch Agglutination und Komplementbindungsreaktion.

**Mutation.** Vibrionenaufschwemmungen verschiedenen Alters (6-, 12-, 22-, 38-, 67-tägig) mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, sodann 5, 17, 24, 60 Tage alte Bouillonkulturen und eine während 10 Monaten etwa 15mal von Agar- zu Agarröhrchen fortgeimpfte Kultur ergaben auf den verschiedensten Nährböden keine Mutationsformen.

Dieser *Vibrio* ist der einzige unter den von mir untersuchten choleraähnlichen Vibrionen, der keine Mutationserscheinungen aufwies. Immerhin kann nicht behauptet werden, daß diese Vibrionenart keiner Mutation fähig wäre. Es ist möglich, daß eben nur der von mir untersuchte Stamm seiner Art die Fähigkeit zum Mutieren nicht besitzt, oder es fehlt auch diesem diese Fähigkeit nicht, nur konnten wir die Bedingungen zu ihrer Entfaltung nicht herstellen. Auch vom Cholera-vibrio ist es ja bekannt, wie ich mich selbst überzeugen konnte, daß bei Anwendung der üblichen Methoden nicht jeder Cholera-stamm zur Erzeugung von Mutationserscheinungen zu bewegen ist.

#### VIII., IX. und X. Fall. *Vibrio* No. 1287, 75 und 78

können zusammen behandelt werden, da sie sowohl morphologisch, wie auch kulturell und serologisch miteinander übereinstimmen.

*Vibrio* No. 1287 wurde aus den zusammengemischten Faeces einer 6 Mitglieder zählenden gesunden Familie am 18. Dez. 1915 reingezüchtet. Die bakteriologische Untersuchung wurde angeordnet, weil die Familie mit Cholera-kranken verkehrte. Auf mein Verlangen wurden die Faeces eines jeden Familienmitgliedes auch in besonderen Gefäßen eingesendet. Diese langten aber infolge der kriegserischen Verkehrsstörungen erst 24 Tage nach der Absendung ins Laboratorium an, als die Entleerungen schon ziemlich ausgetrocknet und mit Schimmel bedeckt waren.

Unter den 6 Faeces konnte ich am 13. Jan. 1916 aus 2 Vibrionen isolieren, nämlich den Vibrio No. 75 und 78.

Alle 3 Vibrionen zeigten folgende gemeinsame Eigenschaften:

Der Form, Größe, Färbbarkeit, Beweglichkeit und Cilienzahl nach stimmen sie mit dem Cholera vibrio überein.

Bouillon wird stark getrübt und zeigt Kahlhautbildung.

Auf gewöhnlichem Schrägagar bilden sie einen grau durchscheinenden Belag; auf Agarplatten 1—1½ mm breite, runde, glatte, grau durchscheinende Kolonien. Die Agarkultur erscheint in der Menge einer vollen Oese gelblichbraun.

Auf Gelatineplatten treten 24 Stunden nach der Aussaat makroskopisch nicht bemerkbare, bei schwacher Vergrößerung runde, helle, fein gekörnte und dunklere, grob gekörnte Kolonien in Erscheinung. In Gelatineröhrchen langsame, trichterförmige Verflüssigung.

In Traubenzuckeragar keine Gasbildung. Traubenzucker- und Milchzuckerbouillon wird in beiden Schenkeln der Gärkölbchen getrübt.

Auf Kartoffel wird in 24 Stunden kein Wachstum bemerkt, nach 2 Tagen zeigt sich ein blaßgelber Belag.

Milch wird nach 4 Tagen zur Gerinnung gebracht.

Lackmusmolke rötet sich, bleibt aber durchsichtig; nach 5 Tagen entfärbt sie sich; nach 3 Wochen ist die Farbe wieder rot, nach 3 Monaten blau.

Neutralrotagar wird im oberen Teil aufgeheilt.

Loeffler I stark getrübt, mit reichlichem grünen Sediment und rissigen Abscheidungen an der Wand des Reagenzglases. Loeffler II unverändert.

Barsiekow I und Hetschesche Lösung stark getrübt und gerötet; Barsiekow II stark getrübt, aber ohne Farbenveränderung.

Auf Drigalski-Conradi-Platten blaue, auf Endo-Agar blaßrote, durchscheinende Kolonien.

Auf Dieudonné-Agar choleraähnliche, auf Kochschem alkalischen Agar weißliche, wenig durchscheinende Kolonien.

Auf gewöhnlichem und Loefflerschem Blutserum gelbliche, verflüssigende Kolonien.

In Hammel- und Rinderblutagar starke Hämolyse.

Nitrosoindolreaktion positiv.

Tierexperimente. Meerschweinchen, denen je ¼ Oese Agarkultur einer der 3 Vibrionen in die Bauchhöhle eingegeben wurde, verendeten innerhalb 18 Stunden, Tauben von einer in die Brustmuskulatur eingespritzten halben Normalöse ebenfalls innerhalb 18 Stunden.

Agglutination. Die Sera der mit den Vibrionen No. 75, 78 und 1287 immunisierten 3 Kaninchen agglutinierten alle 3 soeben genannten Vibrionen bis zur Titergrenze (1:2000), die übrigen 7 Vibrionenarten und den Choleraerreger überhaupt nicht (s. Tabelle I).

Die Komplementbindungsreaktion fiel gleichbedeutend mit der Agglutination aus, wie aus Tabelle VIII erhellt.

Tabelle VIII.

No.	Menge und Art des Serums	Komplement	Ergebnis der Hämolyse									
			Oese Vibrio No. 21	Oese Vibrio No. 266	Oese Vibrio No. 277	Oese Vibrio No. 301	Oese Vibrio No. 324	Oese Vibrio No. 386	Oese Vibrio No. 1012	Oese Vibrio No. 1287	Oese Vibrio No. 75	Oese Vibrio No. 78
1	0,03	0,05 Meer-schw.-Kmpl. dgl.	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	0	0	0
2	0,01		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	0	0	0
3	0,003		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+	+	+
4	0,001		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	++	++	++
5	0,03	Normal-Kan.-Ser.	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	0,01		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	—		+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	—		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Die soeben geschilderten 3 Vibrionen könnten nach dem Resultate des Tierexperimentes dem Vibrio Metschnikoff angegliedert wer-

en, ebenso wie die schon oben beschriebenen Vibrionen No. 266, 277 und 301. Doch unterscheiden sie sich von den letzteren schon durch das Resultat der Agglutination und Komplementbindungsreaktion, außerdem vom Vibrio No. 266 durch ihr Verhalten in Lackmusmolke und inoefflerscher Malachitgrünlösung No. I, vom Vibrio No. 277 in Milch, Barsiekow II, auf Kartoffel und bezüglich der Nitrosoindolreaktion, endlich von Vibrio No. 301 in Milch, Lackmusmolke, Lackmusnutrose-mannitlösung nach Hetsch und auf Kartoffel.

Nach diesen Angaben differieren die Vibrionen No. 75, 78 und 1287 von den 3 übrigen Vibrionen des Metschnikoffschen Typus nur auf wenigen Nährböden, und auch diese Abweichungen treten auf solchen Nährböden in Erscheinung, welchen gegenüber sich auch die einzelnen Stämme des Choleraerregers nicht immer einheitlich verhalten.

Immerhin können auch diese spärlichen Differenzen in Zusammenhang mit dem verschiedenen Ausfall der Agglutinations- und Komplementbindungsreaktion nicht als bloße Variationserscheinungen, sondern als Ausdruck eines Artunterschiedes aufgefaßt werden.

**Mutationserscheinungen:** a) beim Vibrio No. 1287. 18, 23, 41 und 56 Tage alte Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung, auf gewöhnlichem Agar ausgesät, ergaben nach 24 Stunden neben  $1\frac{1}{2}$  mm breiten, grau durchscheinenden, glatten Kolonien viele weißliche, undurchsichtige, gekörnte Kolonien, die diese Struktur auch nach mehreren Tagen beibehielten. Auf Drigalski-Conradi-, Endo- und Dieudonné-Platten wuchsen nur glatte Kolonien.

Nach Aussaat von 35 und 38 Tage alter Bouillonkultur gingen auf gewöhnlichem Agar ebenfalls nur glatte, helle Kolonien an.

Aus 44 Tage alter Bouillonkultur auf gewöhnlichem Agar gewachsene Kolonien zeigten sich in den ersten 24 Stunden hell und glatt, nach 2 Tagen aber erschienen neben 3 mm breiten, hellen einzelne  $1\frac{1}{2}$ —2 mm breite, runde Kolonien mit dunklem Rand und mit groben, rundlichen, teilweise ovalen Körnchen, bzw. Schollen bestreut.

In der aus hellen Kolonien hergestellten 24-stündigen Bouillonkultur sah ich meistens sehr lebhaft bewegliche, kurze Vibrionen; die aus dunklen Kolonien bereitete Bouillonkultur zeigte nur wenige bewegliche Vibrionen. Die Agarkultur sowohl der hellen, wie der dunklen Kolonien besteht aus Vibrionen, die nur molekulare Beweglichkeit zeigen.

Auf Drigalski-Conradi-, Endo- und Dieudonné-Agar entwickelten sich nur glatte Kolonien. Bezüglich der Agglutination verhielten sich die hellen und dunklen (gekörnten) Kolonien gleichmäßig: beide wurden nur von den Immunsereen No. 1287, 75 und 78 agglutiniert.

Von einer Kultur, die während 9 Monaten etwa 15mal von Agar- zu Agarröhrchen fortgeimpft wurde, erhielten wir, auf 1) gewöhnlichen und 2) Dieudonné-Agar überpflanzt, keine Mutationsformen. 3) Auf Endo-Agar waren nach 1 Tage  $1\frac{1}{2}$  mm breite, glänzende Kolonien sichtbar, welche zum dritten Teil homogen und blaßrot erschienen; die übrigen zeigten einen grob gekörnten, dunklen Kern, der von einer hellroten und dann von einer dünnen, farblosen Schicht umgeben war. Einzelne Kolonien besaßen einen dunklen Rand, andere waren an der Peripherie etwas radiär gerunzelt. 4) Auf Drigalski-Conradi-Agar wuchsen meistens blaue, homogene, helle und nur wenige rotviolette, gekörnte, dunkle Kolonien; nach 24 Stunden zeigte sich innerhalb des dunklen Randes ein heller Ring und dann der dunkle, gekörnte Kern.

b) Mutationserscheinungen bei Vibrio No. 75. Die Aussaat einer 16 Tage alten kochsalzwässerigen Aufschwemmung ergab auf gewöhnlichen Agarplatten keine Mutationsformen.

In Ausstrichen von 18 Tage alter kochsalzwässriger Vibrionenaufschwemmung auf Ragitagar entwickelten sich nach 24 Stunden neben 1 mm breiten, grau durchscheinenden, glatten, beinahe ebenso viele undurchsichtige, gekörnte Kolonien, die einen dunklen Kern mit zackigem Rande aufwiesen. Nach 2 Tagen zeigten diese 2 mm großen Kolonien größtenteils entweder radiäre oder netzförmige Runzelung mit gebuchtetem Rande.

23 und 27 Tage alte kochsalzwässrige Vibrionensuspension, auf gewöhnlichem Agar ausgesät, ergab neben wenig glatten, hellen zahlreiche weiß-

liche, undurchsichtige, körnige Kolonien, die nach 48 Stunden noch größtenteils diese Struktur behielten; nur wenige Kolonien zeigten eine radiäre oder netzige Runzelung.

Ausstriche von 58 Tage alter kochsalzwässriger Vibrionenaufschwemmung auf gewöhnlichem Agar brachten nach 15 Stunden bloß weißliche, runde, undurchsichtige, grob gekörnte Kolonien zur Entwicklung, unter denen einzelne, mikroskopisch untersucht, ovale oder unregelmäßige, wallartige Prominenzen zeigten. Nach 3—4 Tagen erschienen die Kolonien in der Mitte grob gekörnt, an der Peripherie glatt durchscheinend mit gezacktem Rande. Auf Dieudonné-Agar fallen schon 15 Stunden nach der Aussaat 1 mm breite, runde, glanzlose Kolonien auf, an denen hier und da ein bald dem Rande, bald mehr dem Zentrum näher liegender runder, ovaler oder vieleckiger Wall bemerkt werden kann. Von letzterem strahlen 6 bis 8 dicke, mit kolbiger Verdickung endende, den Rand der Kolonie meistens nicht erreichende, dunkle Balken aus. Auf Endo- und Drigalski-Conradi-Platten habe ich keine Mutationerscheinungen bemerkt.

Nach Fortpflanzung der auf gewöhnlichem Agar gewachsenen, 14 Tage alten körnigen Kolonien auf frischen gewöhnlichen Agar entwickelten sich wieder größtenteils gekörnte, dunkle, aber auch einzelne glatte, helle Kolonien.

In Ausstrichen von 24 Tage alter Bouillonkultur 1) auf gewöhnlichem Agar gingen nach 24 Stunden neben 1 mm breiten, glatten Kolonien fast ebenso viele kleinere, grobkörnige, undurchsichtige Kolonien an, die auch nach 4 Tagen keine Fältelung aufwiesen. 2) Auf Dieudonné-Agar bildeten sich fast nur helle Kolonien: bloß 1 Kolonie zeigte eine aus 4 Strahlen bestehende, dicke, dunkle Runzelung. 3) Auf Drigalski-Conradi-Agar waren wenig glatte, aber zahlreiche körnige, blaue Kolonien sichtbar. Hier und da zeigten die Körner eine radiäre Gruppierung. Einzelne rotviolette, trockene, glanzlose, dem Nährboden fest anhaftende Kolonien zeigten mikroskopisch eine aus dicken Wülsten zusammengesetzte, unregelmäßige Runzelung. Wenige Kolonien wiesen mehrfach gebogene, wallartige Wülste auf, deren Krümmungen dem Rande radienartig zugekehrt waren. Diese Struktur bewahrten auch noch die 4-tägigen, mit gebuchtem Rande versehenen Kolonien. 4) Auf Endo-Agar entstanden nach 24 Stunden rote, größtenteils dunkle Kolonien mit dunklem, zackigen Rande; 1 Kolonie zeigte peripherische, radiäre Zeichnung. An 48 Stunden alten Kolonien ist um den gekörnten Kern ein peripherischer, glatter, heller Teil sichtbar. In den 3-tägigen Kolonien zeigte sich hier und da eine netzige Runzelung.

Eine 2—3-wöchentlich 1mal, insgesamt etwa 12mal, von Agar- zu Agarröhren fortgeimpfte Kultur lieferte 1) auf gewöhnlichem Agar 24 Stunden nach der Aussaat einen mehr oder weniger breiten, glatten, hellen, peripherischen Teil und einen grob gekörnten, dunklen Kern besitzende Kolonien. Der Kern einer Kolonie hatte einen runzeligen, dunklen Rand. Eine andere Kolonie zeigte an einer Seite des dunklen Kerns ein von dunklem Wall umgebenes, helles, fein gekörntes rundes Feld. Nach 48 Stunden zeigten die meisten Kolonien ein von hellen Streifen gebildetes Netz, welches mosaikartige, dunkle Felderung bedingte. Hier und da war auch eine dunkle, netzartige oder radiäre Zeichnung zu beobachten. Der Rand der Kolonien war hell, meistens gebuchtet. Die helle, netzige Zeichnung ließ sich auch noch an 10 Tage alten Kolonien beobachten. 2) Auf Dieudonné-Agar gingen wenige glatte, glänzende und zahlreiche trockene, matte, festhaftende Kolonien an. Letztere waren teilweise gleichmäßig gekörnt, meistens aber grob radiär gerunzelt. Die Runzeln strahlten entweder vom Zentrum aus oder von einem rundlichen, manchmal ovalen, dicken Wall. Hier und da war auch eine runde wallartige Wulstung ohne Ausstrahlungen zu bemerken. Nach 48 Stunden zeigte sich auch netzförmige Runzelung, die wir noch 10 Tage später wahrnehmen konnten. 3) Auf Drigalski-Conradi-Agar waren 24 Stunden nach der Aussaat größtenteils rotviolette Kolonien zu sehen, welche meistens aus einem dunklen, gekörnten, runden Kern und aus einem glatten, peripherischen Teil bestanden. Der Kern einzelner Kolonien besaß einen dunklen, gezackten Rand. Hier und da strahlten von einem runden Wall dicke, dunkle Balken bis zum glatten Rande aus. Nach 48 Stunden war der gekörnte, dunkle Kern der meisten Kolonien von einem Netz heller, dünner Streifen durchsetzt. Solche Kolonien zeigten eine trockene, matt glänzende Oberfläche. 4) Auf Endo-Agar gingen 24 Stunden nach der Aussaat rote, granulierte, dunkle Kolonien mit gezacktem Rande an. Nach 48 Stunden waren sie als dunkler Kern von einem hellen, glänzenden peripherischen Teil umrandet. Nach 3 Tagen erschienen einzelne Kolonien netzförmig gerunzelt.

Ich fasse die beim Vibrio No. 75 gemachten wichtigeren Beobachtungen in folgendem zusammen: 1) Nicht nur ältere kochsalzwässrige Vibrionensuspensionen und Bouillonkulturen, sondern auch eine Agarkultur, die 2—3-wöchentlich wiederholte, etwa 12 Agarpassagen durch-

gemacht hatte, lieferten zahlreiche mutierende Kolonien. 2) Mutationserscheinungen ließen sich nicht nur auf gewöhnlichem, sondern auch auf Dieudonné-, Endo- und Drigalski-Conradi-Platten wahrnehmen. 3) Die Mutationsformen waren ziemlich mannigfach: bald stark granuliert, bald gerunzelt, mit wallartigen Wülsten, radiärer oder netziger Zeichnung. Besondere Erwähnung verdient, daß viele Kolonien vom 2. und noch mehr vom 3. Tage an eine helle, feine, netzförmige Zeichnung aufwiesen, die eine dunkle Felderung der ganzen Kolonie oder nur ihres Kernes bedingte. 4) Es soll noch hervorgehoben werden, daß sich die Mutation nicht nur in morphologischer Veränderung der Kolonien, sondern auch in veränderter chemischer Reaktion des Nährbodens äußerte, die auf Endo-Agar und besonders auf Drigalski-Conradi-Platten zu beobachten war, welch letzterer Nährboden zum Studium der Mutationsvorgänge bei Choleravibrionen bisher noch nicht verwendet wurde. Auf Endo-Agar erscheinen nämlich die mutierenden, besonders die trockenen, matten, runzeligen Kolonien tiefrot, auf Drigalski-Conradi-Platten (statt blau) rotviolett.

c) Mutationserscheinungen bei *Vibrio* No. 78. 16 Tage alte, kochsalzwässrige Vibrionensuspension, auf gewöhnlichem Agar ausgesät, lieferte schon nach 24 Stunden meistens mutierende Kolonien, die einen Durchmesser von 3–5 mm erreichten, unregelmäßig gebuchtete, zackige Ränder und glanzlose runzelige Oberfläche zeigten und bei mikroskopischer Beobachtung teils radiäre, teils verzweigte und netzförmig angeordnete Balken aufwiesen, die an Käferflügel erinnern. Eine dieser Kolonien erreichte nach 48 Stunden einen Durchmesser von 11 mm, bzw. 8 mm. Von dieser blätterartig gebauten Kolonie nach 9 Tagen auf gewöhnlichen Agar überpflanzt, wuchsen 15 Stunden nach der Aussaat nicht im ganzen 1 mm breite, ausschließlich glanzlose Kolonien, die fast alle ein von dunklem, rundem Wall umgebenes helles, durchscheinendes Zentrum zeigten. Nach 24 Stunden waren die Kolonien etwas mehr als 1 mm breit, aus ihrem wallartigen Wulst zogen 7–8, selten etwas mehr oder weniger dunkle Strahlen dem Rande zu. Einzelne Strahlen sandten auch Seitenäste aus, die aber den nächsten Strahl meistens nicht erreichten, hier und da war aber schon die Anastomose fertig. In wenigen Kolonien strahlten die Runzeln direkt vom Mittelpunkt aus. An 3-tägigen, 2–3 mm breiten Kolonien waren schon die Strahlen durch dem Rande entlang verlaufende Wülste verbunden: sogenannte Radform mit Speichen. – Manche Kolonien zeigten dichte, netzige Runzelung. Dieses bunte Bild änderte sich auch nach 8 Tagen nicht.

Aus der großen, blattförmigen Kolonie wurde auch, als sie 21 Tage alt war, auf frische Agarplatten eine Aussaat gemacht. Es entwickelten sich im allgemeinen dieselben Mutationsformen, wie an der 9-tägigen Kolonie, nur mit dem Unterschiede, daß auch wenige glatte, helle Kolonien angingen.

Letztere erreichten 24 Stunden nach der Aussaat eine Breite von 2–3 mm. Wurden diese 3 Tage alten Kolonien auf frische Agarplatten übertragen, so erhielten wir in überwiegender Zahl glatte, helle und nur vereinzelte runzelige Kolonien, welch letztere noch nach 4 Tagen eine dichte, radiäre Zeichnung aufwiesen.

Nach Ausstrich von 23 Tage alter kochsalzwässriger Vibrionenaufschwemmung auf gewöhnlichem Agar entwickelten sich nach 24 Stunden wenige, grau durchscheinende und zahlreiche weißliche, undurchsichtige Kolonien, welche meistens grob gekörnt erschienen. Einzelne ließen bald dem Rande parallel, bald exzentrisch liegende, runde, wallartige, dunkle Wülste, andere wieder schwach ausgeprägte, radiäre Runzelung erkennen. Nach 2 Tagen waren 1–3 mm breite Kolonien sichtbar, die größtenteils ein grob gekörntes Zentrum und einen glatten hellen Rand aufwiesen. Einzelne Kolonien zeigten einen dem Rande parallelen Wall, andere wieder netzige oder radiäre Runzelung, die sich entweder auf die ganze Kolonie, oder nur auf den Kern erstreckte. An manchen Kolonien ist das Zentrum radiär, der periphere Teil netzig gerunzelt. Endlich fanden sich auch im Durchmesser 6–7 mm messende Kolonien mit unregelmäßig gebuchtetem, gezacktem Rande, die größtenteils grob granuliert erschienen, an ihrem Rande aber eine Kette von ringförmigen, dunklen Wülsten aufwiesen, die hell durchscheinende Felder umgaben. Die Struktur der Kolonien änderte sich nach 3 Tagen kaum etwas.

Aus 27 Tage alter Kochsalzwasserkultur gingen auf alkalischem Agar 15 Stunden nach der Aussaat größtenteils grau durchscheinende, helle, glatte

Kolonien an. Einzelne zeigten einen wallartigen, runden Wulst. Nach 2 Tagen waren schon zahlreiche radiär und netzförmig gerunzelte Kolonien, sowie etliche Ringformen sichtbar. Dieses Bild blieb noch am 6. Tage unverändert.

Aus einer 10 Tage alten, netzig gerunzelten Kolonie, auf gewöhnlichem Agar ausgesät, entwickelten sich nach 15 Stunden nadelstichgroße, weiße Kolonien mit gezacktem Rande und wallartigen Wülsten, von denen nach 40 Stunden dem Rande zustrebende Strahlen ausgingen. Die Vibrionen der „gewulsteten“ (runzeligen) Kolonien sind etwa so groß und wohlgekrümmt wie in den glatten Kolonien, nur erscheinen sie etwas dünner und färben sich schwächer. Im hangenden Tropfen zeigen sowohl die Vibrionen der hellen, glatten, wie auch die der gerunzelten Kolonien nur molekuläre Beweglichkeit. Wurde von den glatten Kolonien etwas in Bouillon überpflanzt, so zeigte es sich, daß diese Kultur nach 24 Stunden aus sehr lebhaft und selbständig beweglichen Vibrionen bestand, während die Vibrionen der aus einer gerunzelten Kolonie bereiteten Bouillonkultur nur molekuläre Beweglichkeit zeigten.

Nach Aussaat aus einer 24 Tage alten Bouillonkultur wuchsen nach 24 Stunden 1) auf gewöhnlichem Agar meistens 1 mm breite, glatte und nur vereinzelte kleine, granuliert Kolonien mit glattem oder gezacktem Rande. Nach 2 Tagen erreichte der Durchmesser der glatten, glänzenden Kolonien bis 3 mm. Einzelne unter diesen Kolonien wiesen gerunzelte, matt glänzende Auswüchse auf, die einen glatten, gebuchteten Rahmen besaßen und von einem Netz spärlicher, dicker, dunkler Balken durchsetzt waren; innerhalb letzterer fiel ein dichteres und helleres feines Netzwerk auf. Es waren auch Kolonien vorhanden, die fast in ihrer ganzen Ausdehnung ein feines, helles Netzwerk aufwiesen, das dunkle, gekörnte Felder umrahmte. Die runzeligen Kolonien bestanden aus kurzen, die glatten aus mittelgroßen Vibrionen. 2) Auf Dieudonné-Agar gingen meistens glatte Kolonien an. Einzelne winzige Kolonien erschienen gekörnt, manche hatten einen wallartigen Wulst. Nach 2 Tagen zeigten einige weiße, glanzlose Kolonien eine grobe, entweder radiäre oder netzförmige Runzelung; an manchen Kolonien fiel eine periphere radiäre, im Zentrum aber netzförmige Zeichnung auf. Am 4. Tage zeigte sich auch bei manchen, ursprünglich glatten Kolonien ein gerunzelter Kern. 3) Auf Drigalski-Conradi-Agar entwickelten sich wenige glänzende, glatte, blaue und zahlreiche glanzlose, rotviolette Kolonien. Letztere erschienen teilweise grob granuliert; andere zeichneten sich durch radiäre oder netzige Runzelung aus. Die Strahlen gingen entweder vom Zentrum der Kolonie oder von einem kreisförmigen, hier und da hufeisenförmigen Wulst aus. — Die Vibrionen der glatten Kolonien waren lang, dick, deutlich gekrümmt und gut färbbar, die gerunzelten bestanden teilweise aus kurzen, wenig deutlich gekrümmten Vibrionen, teilweise aus längeren, dicken, fusiformen Bazillen und welligen oder unregelmäßig gekrümmten Fäden. Sie färbten sich ungleichmäßig und schwächer als die Vibrionen der glatten Kolonien. 4) Auf Endo-Agar entstanden nach Verlauf von 24 Stunden meistens rote, granuliert Kolonien, mit dunklem, gezacktem Rande; einzelne zeigten nach 3 Tagen netzförmige Runzelung; auch hier fanden sich in den runzeligen Kolonien unter anderem lange, dicke, spindelförmige Bazillen und fadenförmige Mikroorganismen.

Eine Agarkultur, die, 2–3-wöchentlich 1mal überimpft, etwa 15 Agarpassagezüchtungen unterworfen war, lieferte 1) auf gewöhnlichem Agar 24 Stunden nach der Aussaat wenige glatte und etwa 2mal so viele granuliert Kolonien. Nach 48 Stunden war der dunkle, granuliert Kern der meisten Kolonien von einem Netz dünner, heller Streifen durchsetzt. Hier und da waren auch dicke, dunkle Balken zu sehen, die vom Zentrum der Kolonie ausstrahlten. Dieses Bild änderte sich auch nach 10 Tagen nicht wesentlich. 2) Auf Dieudonné-Agar entwickelten sich in überwiegender Zahl radiär oder netzförmig gerunzelte, glanzlose, flache Kolonien, deren Durchmesser nach 48 Stunden 3–4 mm erreichte. 3) Auf Endo-Agar meistens rote, granuliert, 4) auf Drigalski-Conradi-Platten wenige blaue und zahlreiche rotviolette Kolonien. Letztere waren fast ohne Ausnahme gerunzelt, matt glänzend; einzelne zeigten einen wallartigen Wulst ohne oder mit peripherischer radiärer Zeichnung. Andere wiesen netzförmige Runzelung auf.

Die Mutationserscheinungen des Vibrio No. 78 sind also im Grunde genommen denen des Vibrio No. 75 analog. Nur in einzelnen Nuancen zeigte sich eine Abweichung. So erreichten einzelne gerunzelte Kolonien des Vibrio No. 78 auf Ragitagar eine ungewöhnliche Ausbreitung (bis zu 11 mm). Außerdem zeigten einzelne glatte, 2 Tage alte Kolonien netzig gerunzelte, kreissegmentförmige Auswüchse. Es ist weiterhin bemerkenswert, daß die mutierenden Kolonien auf Drigalski-Con-

radi- und Endo-Agar außer Vibrionen auch spindelförmige Bazillen und wellenförmig oder unregelmäßig gebogene Fäden enthielten.

Es soll noch hervorgehoben werden, daß beim Ueberimpfen der gerunzelten Kolonien auf frischen Nährboden die enge Zusammengehörigkeit der verschiedenen mikroskopischen Formen hervortrat; entwickelten sich doch z. B. aus einer einzigen netzförmig gerunzelten Kolonie die verschiedensten Mutationsformen. Ferner konnte festgestellt werden, daß aus mutierenden Kolonien, innerhalb von 10 Tagen überimpft, wieder nur mutierende Kolonien zur Entwicklung gelangten, aus 21 Tage alter Kultur gingen aber, zwar in ganz unbedeutender Zahl, auch glatte, helle Kolonien an.

Wenn wir nun die Mutationerscheinungen des Vibrio No. 75 und 78 mit denen des Vibrio No. 1287 vergleichen, so ist es auffallend, daß sich letzterer bezüglich seiner Mutationsformen von den ersteren wesentlich unterscheidet, obwohl er sonst in allen anderen Eigenschaften mit denselben vollkommen übereinstimmt. Er bildet nämlich, wie aus der gegebenen, genauen Beschreibung hervorgeht, außer glatten Kolonien fast nur granulierte Formen, die von den originellen glatten Kolonien bei weitem nicht so sehr abweichen, wie die bei Vibrio No. 75 und 78 beobachteten runzeligen Kolonien. Es konnte nämlich nicht einmal eine spontane Agglutination bei diesen granulierten Kolonien nachgewiesen werden, obwohl diese Erscheinung bei gekörnten Kolonien anderer Vibrionen ebenso beobachtet wurde, wie bei gerunzelten Kolonien.

Indem wir das abweichende Verhalten des Vibrio No. 1287 bei der Mutation gegenüber den 2 ihm ganz nahe verwandten Vibrionen zu deuten versuchen, müssen wir uns vor Augen halten, daß die Entleerungen, aus denen Vibrio No. 75 und 78 gezüchtet wurden, infolge der Eisenbahnverkehrsstörungen durch den Krieg, erst 24 Tage nach der Absendung untersucht werden konnten und so während dieser Zeitdauer der Winterkälte (im Dezember und Januar) und der Austrocknung ausgesetzt waren. Es kann also die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß der längere Zeit dauernde Einfluß der Kälte und der Austrocknung auf die formale Ausbildung der mutierenden Kolonien modifizierend einwirkte; das würde also mit anderen Worten bedeuten, daß Vibrio No. 75 und 78 ursprünglich auch bezüglich ihrer Mutationsvorgänge, ebenso wie sonst in allen ihren anderen Eigenschaften, mit Vibrio No. 1287 übereinstimmten.

Den Einfluß der Temperatur auf die Wucherungsart der Cholera-vibrionen illustrieren die Versuche Olssons, der, Cholera-vibrionen in sterilisiertem Rinderdünger bei 25, 20, 18, 16, 14° züchtend und nach verschiedener Zeit auf Agarplatten überpflanzend, je nach der Temperaturhöhe und Zeitdauer, verschiedene Kolonieförmigkeiten erhielt.

Der Einfluß niederer, der Winterkälte entsprechender Temperaturen wurde bisher nicht geprüft. Es ist aber kaum denkbar, daß die Winterkälte auf die weitere Formentwicklung der Vibrionenkolonien ohne Einfluß gewesen sei, und es kann demnach die Möglichkeit nicht zurückgewiesen werden, daß vielleicht auch die niedere Temperatur mitwirkte, daß Vibrio No. 75 und 78 hauptsächlich runzelige Mutationsformen gegenüber den granulierten Kolonien des Vibrio No. 1287 aufwiesen.

Auch der Austrocknung der Faeces kann ein gewisser Einfluß eingeräumt werden. In diesem Sinne können die oben erwähnten Untersuchungen Olssons ebenfalls verwertet werden, wenn sie auch hauptsächlich auf den Einfluß der Trockenheit des Agarnährbodens ein Licht



werfen. Und auch meine Erfahrungen, wonach anfangs glatte Kolonien manchmal erst nach mehreren Tagen eine runzelige Beschaffenheit erlangen, sprechen für den Einfluß der Austrocknung. Doch kann man der Austrocknung keine ausschlaggebende Rolle zuschreiben, denn ich erhielt bei leicht mutierenden Stämmen manchmal schon 15 Stunden nach der Aussaat auf noch feuchtem Agar runzelige Kolonien.

Solche Erfahrungen drängen zu der Annahme, daß die Ausbildung der Mutationsvorgänge im allgemeinen und speziell ihre Erscheinungsformen neben äußeren Einwirkungen auch von einer inneren, den Vibrionen innewohnenden Potenz beeinflusst werden. Diese Potenz scheint selbst bei Stämmen einer und derselben Vibrionenart nicht immer in gleicher Stärke ausgebildet zu sein. Diese Annahme würde die Tatsache erklären, daß mehrere Cholerastämme, unter dieselben äußeren Verhältnisse gebracht, nicht in gleicher Weise auf mutationauslösende Einwirkungen reagieren. Während nämlich ausnahmsweise Cholerastämme beobachtet wurden (Baerthlein), die ohne Anwendung besonderer Methoden schon bei der ersten, unmittelbar von den verdächtigen Entleerungen gemachten Aussaat Mutationsvorgänge aufwiesen, gibt es wieder andere, die nur schwer, mit besonderen Kunstgriffen, und endlich solche die auch bei Anwendung der bisher bekannten mutationauslösenden Methoden nicht zur Bildung von mutierenden Kolonien zu bewegen sind. Solche Cholerastämme untersuchte z. B. Eisenberg, und auch zwischen den von mir gezüchteten Cholerastämmen fanden sich einzelne, die seit 3 Jahren, von Agar- zu Agarröhrchen fortgezüchtet, bei Anwendung der oben angegebenen Methoden keine Mutationserscheinungen darboten.

Dieses ungleichmäßige Verhalten der Choleravibrionenstämme gegenüber mutationauslösenden Einwirkungen läßt auch die Vermutung zu, daß die anscheinend refraktären Stämme wahrscheinlich ebenfalls mutationsfähig sind, nur kennen wir vorläufig die Bedingungen nicht, welche ihren Mutationserscheinungen zur Ausbildung verhelfen könnten.

Ebenso kann auch eine Mutationsfähigkeit aller choleraähnlichen Vibrionen vorausgesetzt werden. Dies wird durch die Tatsache wahrscheinlich gemacht, daß unter unseren 10 Vibrionenstämmen nicht weniger als 9 sich befanden, die zur Bildung von mutierenden Kolonien anzuregen waren.

### Schlußbetrachtungen.

Nach den vorausgeschickten Schilderungen und Erörterungen kann nunmehr die Beantwortung der in der Einleitung aufgeworfenen Fragen versucht werden.

Die 1. Frage, ob die Agglutinationsreaktion für choleraähnliche Vibrionen eine artunterscheidende Bedeutung besitzt oder nicht, ist nach meinem Dafürhalten bejahend zu beantworten. Denn 1) war für diejenigen Vibrionen (No. 75, 78 und 1287), welche bei der Agglutinationsreaktion ein einheitliches Verhalten verrieten, auch die Uebereinstimmung aller übrigen (morphologischen, kulturellen, tierexperimentellen) Eigenschaften zu konstatieren, und 2) stellte es sich heraus, daß die anderen 7 Vibrionenstämme, welche sich serologisch wie besondere Arten verhielten, auch kulturelle Verschiedenheiten aufwiesen.

Es ist also die Annahme berechtigt, daß die oben beschriebenen

10 Vibrionen 8 verschiedenen Arten angehören. Das serologische Verhalten, als artunterscheidendes Merkmal, hat allerdings mehr Berechtigung als die auf dem Ergebnis der Tierversuche fußende Artbestimmung, welche z. B. bei der Diagnose des *Vibrio Metschnikoff* für maßgebend erachtet wird. Denn bei meinen Untersuchungen verhielten sich bezüglich ihrer Meerschweinchen- und Taubenpathogenität 6 unter 10 Vibrionenstämmen dem *Vibrio Metschnikoff* ähnlich, serologisch und kulturell gehören sie aber 4 verschiedenen Arten an (I. *Vibrio* No. 266, II. *Vibrio* No. 277, III. *Vibrio* No. 301, IV. *Vibrio* No. 75, 78 und 1287).

Die bejahende Beantwortung obiger Frage liefert zugleich die Grundlage zur Lösung jener Frage: ob viele oder nur wenige, aber in zahlreichen Variationen vorkommende Arten der choleraähnlichen Vibrionen existieren?

Denn konnten unter 10 Vibrionenstämmen nicht weniger als 8 verschiedene Arten verzeichnet werden, so ist die Behauptung gewiß nicht gewagt, daß die Zahl der in Gewässern, Kanaljauchen, Darminhalt etc. vorkommenden Vibrionenarten viel höher anzuschlagen ist, worauf übrigens auch die Untersuchungen von Gotschlich, Kolle, Hetsch, Lentz und Otto hinweisen, die unter 22 choleraähnlichen Vibrionen 17 verschiedene Arten fanden.

Eine andere Frage, die wir in den einleitenden Erörterungen aufrollten, ob sich auch die Komplementbindungsreaktion zur Unterscheidung der verschiedenen Vibrionenarten eignet oder nicht, kann nach den mitgeteilten Untersuchungsergebnissen ebenfalls bejahend beantwortet werden.

Es stellte sich nämlich heraus, daß die Ergebnisse der Agglutinations- und Komplementbindungsreaktion sich gegenseitig decken. Eine geringe Abweichung zeigte sich nur beim *Vibrio* No. 266 insofern, als das Serum des mit diesem *Vibrio* immunisierten Kaninchens nicht nur den homologen, sondern auch den *Vibrio* No. 386 agglutiniert hatte, während dasselbe Serum nur mit *Vibrio* No. 366 eine positive Komplementbindungsreaktion aufwies, nicht aber mit *Vibrio* No. 386. Doch vermindert dieses abweichende Ergebnis den Wert der Komplementbindungsreaktion als artunterscheidende Methode keinesfalls; agglutiniert doch das Immunserum No. 266 den *Vibrio* No. 386 nur weit unter der Titergrenze und das mit letzterem *Vibrio* hergestellte Kaninchenimmunserum den *Vibrio* No. 266 überhaupt nicht. Es bedeutet also die Agglutination des *Vibrio* No. 386 durch das Immunserum No. 266 nicht mehr als eine Mitagglutination.

Das Resultat der Komplementbindungsreaktion steht also in vollstem Einklange mit dem der Agglutination und erstere kann demnach zur Unterscheidung der choleraähnlichen Vibrionenarten als ergänzende Methode mit der Agglutinationsprobe zugleich verwendet werden.

Die Komplementbindungsreaktion wurde bei choleraähnlichen Vibrionen als artunterscheidende Probe bisher nicht benützt. Baerthlein führte zwar bei seinen Untersuchungen über choleraähnliche Vibrionen auch die Komplementbindungsreaktion aus; er gebrauchte indes als Antikörper nur Choleraserum, nicht aber auch Sera, die durch Immunisierung mit choleraähnlichen Vibrionen gewonnen wurden.

Es ist wohl wahr, daß die Komplementbindungsreaktion, in dieser Ausdehnung ausgeführt, eine sehr zeitraubende Arbeit ist und vielleicht

auch nicht immer so schöne Resultate gibt, wie das Pfeiffersche Experiment; sie besitzt aber letzterem gegenüber den Vorteil, daß sie auch mit nichtpathogenen Bakterien ausführbar ist und bei massenhaften Untersuchungen eine Ersparnis von Meerschweinchenmaterial ermöglicht, was besonders unter den gegenwärtigen Kriegsverhältnissen, wo die Verschaffung von Meerschweinchen in größerer Zahl mit kaum zu überwindenden Schwierigkeiten verbunden ist, einen besonderen Vorteil bedeutet.

Eine weitere Frage, deren Lösung unsere Untersuchungen liefern, lautet: Können die Mutationserscheinungen zur Unterscheidung der choleraähnlichen Vibrionenarten voneinander und von dem echten Choleraerreger als Grundlage dienen oder nicht?

Bevor wir diese Frage beantworten, müssen wir 1) kurz die Mutationsformen skizzieren, die von Baerthlein, Eisenberg, Baile etc. beim Choleraerreger beschrieben wurden. 2) Dann soll geprüft werden, ob unter den Mutationserscheinungen bei den choleraähnlichen Vibrionen sich solche finden, die beim Choleraerreger nicht beobachtet worden sind. 3) Endlich soll dargelegt werden, ob zwischen den Mutationsvorgängen der verschiedenen Vibrionenarten wesentliche Unterschiede vorhanden sind oder nicht.

Ad 1. Was die Form der auf alkalischen Agarplatten (sogenanntem Choleraagar) wachsenden Cholerakolonien anbelangt, so unterscheidet Baerthlein, dem wir in der Mutationsfrage mehrere grundlegende Untersuchungen verdanken, 3 Typen: 1) die für Cholera charakteristischen hellen, blau durchscheinenden, 2) gelblich weißen, undurchsichtigen, an *B. coli* erinnernde Kolonien und 3) die schon von Kolle beschriebenen sogenannten Ringformen, die aus einem gelblich-weißen, undurchsichtigen Zentrum und einer hellen, durchscheinenden Randzone bestehen.

Während Baerthlein die Kolonien nur makroskopisch oder höchstens mit der Lupe betrachtete, wendete Eisenberg bei seinen Untersuchungen auch das Mikroskop an, mit dessen Hilfe eine größere Mannigfaltigkeit der Mutationsformen beobachtet werden kann.

Eisenberg unterscheidet, auf Cholera bezogen, 4 Kolonienformen: 1) helle, 2) Uebergangsform, 3) dunkle (gewulstete), 4) Ringform.

Die 2. Form entspricht der Baerthleinschen gelbweißen, coliartigen Kolonie. Diese hat eine „erhabene Wölbung und steilere Ränder“, als die helle Form, ist anfangs fein, später dicht und grob gekörnt und zeigt unter dem Mikroskope eine sehr feine, hauptsächlich an der Peripherie sichtbare, radiäre Streifung.

Die dunkle, „gewulstete“ Form ist undurchsichtig, hat eine trockene, rauhe Oberfläche, anfangs grob granuliert, zeigt sie dann mikroskopisch radiär verlaufende, dem wallartig erhabenen Rande zustrebende Wülste; letztere können sich verzweigen und miteinander anastomosieren. Manchmal „erfolgt parallel dem Randwulst eine konzentrische Wulstbildung, und es entstehen Radformen mit Speichen“ (Eisenberg). Für die dunkle Form ist charakteristisch: eine kompakte Konsistenz, trockene Oberfläche, Wachstum in die Höhe und spontane Agglutination. Sowohl die Uebergangs- wie die dunklen Formen können bei ihrem Altern am Rande Auswüchse erhalten, die ihrer Struktur nach der hellen Form entsprechen. Wird aber von diesen hellen Sprossen auf frischem Agar

Aussaat gemacht, so erscheinen dunkle Kolonien. [NB. Bei meinen eigenen Untersuchungen konnte ich mehrmals auch gerunzelte Auswüchse beobachten und, aus den glatten Sprossen auf frische Agarplatten übertragen, wuchsen wiederholt glatte Kolonien.]

Einen „geradezu verwirrenden“ Formenreichtum konnte Bail aus einer alten Bouillonkultur einer glatten Kolonie gewinnen, die nach wiederholten Ueberimpfungen schließlich bis über 30 Formen lieferte. Sie hatten aber meistens nur beschränkten Bestand und können in die eben geschilderten Grundtypen von Baerthlein und Eisenberg eingereiht werden.

Ad 2. Hier sollen noch die bei den von mir gezüchteten cholera-ähnlichen Vibrionen beobachteten „mutierenden“ Formen rekapituliert werden.

Beim *Vibrio* No. 21 sahen wir, außer hellen, glatten Kolonien, nur solche, die, der beim *Cholera*vibrio beobachteten Ringform entsprechend, aus einem grob gekörnten, undurchsichtigen Zentrum und einem durchscheinenden, hellen, peripherischen Teil bestehen.

Beim *Vibrio* No. 266 ließen sich unterscheiden: 1) die dunkle, gewulstete Form Eisenbergs mit radiärer oder netzartiger Runzelung und wallartig verdicktem Randteil, 2) die Ringform, 3) die Uebergangsform und 4) die glatte Form.

*Vibrio* No. 277 bildete: 1) in der Mitte granuliert, an der Peripherie radiär gestreifte, 2) mit exzentrisch oder konzentrisch gelagerten, wallartigen, runden Wülsten versehene Kolonien, die radspeichenähnliche Ausstrahlungen zeigten, oder radiär gerunzelte Kolonien mit bis zum wallartig verdickten Rande reichenden Strahlen („Radform mit Speichen“), 3) netzartige, dunkle Runzelung zeigende, nur am Rande glatte Kolonien, 4) aus dem glatten, durchscheinenden Rande gerunzelter Kolonien ausgehende kreissegmentförmige, netzig gerunzelte Sprossen.

Beim *Vibrio* No. 301 entsprechen die Mutationsformen in überwiegender Zahl den Baerthleinschen undurchsichtigen, granulierten Coliformen; es konnten aber nur wenige radiär oder netzförmig gerunzelte Kolonien beobachtet werden.

*Vibrio* No. 324 lieferte auf gewöhnlichem Agar nur grob granuliert, auf Drigalski-Conradi-Platten auch netzig und radiär gerunzelte Kolonien.

Bei *Vibrio* No. 386 konnten 1) an 6 Tage alten Agarkolonien konzentrisch gelagerte Wulstschichten mit radiär gestreifter Peripherie und glattem Kern beobachtet werden. 2) Aus einer solchen Kolonie entstanden bei der folgenden Aussaat Kolonien mit peripherischer radiärer und zentraler netzförmiger Zeichnung. 3) Aus einer glatten Kolonie wuchs ein kreissegmentartiger, netzförmig gerunzelter Sproß hervor. 4) Aus konzentrisch geschichteten Kolonien gingen glatte, kreissegmentförmige Auswüchse hervor.

Die Veränderlichkeit des *Vibrio* No. 1287 offenbarte sich auf gewöhnlichem Agar nur in Form von grob granulierten Kolonien. Auf Endo-Agar wuchsen auch wenige an der Peripherie radiär gestreifte Kolonien.

*Vibrio* No. 75 und 78 bildeten, neben granulierten, die verschiedenartigsten gerunzelten Kolonien, darunter auch solche, die eine helle, feine, netzartige Zeichnung aufwiesen, was im Gegensatz zu der öfters vorkommenden dunklen netzigen Runzelung besonders auffiel.

Um die Uebersicht zu erleichtern, sollen noch die beobachteten

Kolonienformen im allgemeinen (ohne Rücksicht auf die einzelnen Vibrionenarten) kurz zusammengefaßt werden.

Makroskopisch waren außer der glatten, hellen, durchscheinenden, den Urtyp repräsentierenden Form undurchsichtige, gelblichweiße, Coli-ähnliche und trockene, matt glänzende, gerunzelte Kolonien zu unterscheiden. Oft kamen gemischte Formen vor, und zwar erschien gewöhnlich der Kern weißlich, undurchsichtig, trocken und der periphere Teil glatt, durchscheinend und feucht glänzend; selten war dieses Verhältnis umgekehrt.

Mikroskopische Formen der undurchsichtigen, dunklen Kolonien: 1) gekörnte Kolonien, mit feinen Körnern oder mit groben, runden, selten ovalen Schollen bestreut, 2) netzartig gerunzelte, 3) radiär gerunzelte Formen, 4) Kolonien mit runden oder ovalen, hier und da hufeisenförmigen, wallartigen Wülsten; selten bilden die wallartigen Wülste konzentrische Schichten. Diese Formen kommen auch miteinander oder mit der glatten Form gemischt vor, wodurch ein großer Formenreichtum resultiert. So habe ich beobachtet: a) an der Peripherie radiäre, in der Mitte netzig gerunzelte, b) im Zentrum gekörnte, an der Peripherie strahlig gerunzelte, c) in der Mitte netzartig gerunzelte, in der Randzone glatte, d) im Zentrum radiär gestreifte, an der Peripherie glatte, e) im mittleren Teil gekörnte, in der Randzone glatte Kolonien, f) aus wallartigen Wülsten ausgehende, entweder dem Rande oder dem Zentrum zugewendete Ausbuchtungen, g) Kolonien mit einem Netzwerk von feinen, hellen Streifen, die eine mosaikartige Felderung der grob gekörnten, dunklen Koloniemasse bedingen, h) eine Kombination von einer hellere und dunklere, netzartige Zeichnung aufweisenden Kolonien, i) gerunzelte Kolonien mit glatten, kreissegmentförmigen Sprossen, k) glatte Kolonien mit gerunzelten Sprossen.

Die geschilderten Kolonieformen sind bei 37° C teilweise schon 24 Stunden nach der Aussaat, manchmal auch früher, zu beobachten oder erscheinen erst nach 2—4 Tagen. Manchmal zeigte sich eine gewisse Beständigkeit, besonders bei den gekörnten und netzig gerunzelten Kolonien, so daß sie oft 8—10 Tage und manchmal auch länger ihre mikroskopische Struktur bewahrten, ein ander Mal veränderten sie ihre Struktur schon nach 3—4 Tagen, so z. B. nahmen die anfangs granulierten Kolonien eine netzförmige Runzelung oder umgekehrt an.

Die Vibrionen der „mutierenden“ Kolonien besitzen meistens keine selbständige Beweglichkeit, zeigen spontane Agglutination, oft färben sie sich schwach und ungleichmäßig, manchmal sind sie länger oder kürzer und weniger gut gekrümmt, als in den glatten Urkolonien.

Aber die glatten, durchscheinenden Kolonien der späteren Passagezüchtungen entsprechen auch nicht immer dem Urtyp, indem ihre Vibrionen oft ebenfalls mehr keine selbständige Beweglichkeit besitzen und spontane Agglutination aufweisen.

Die oben registrierten Kolonieformen bieten im wesentlichen dieselben Erscheinungsformen, welche nach den Untersuchungen Eisenbergs und Bails auch bei Cholera-vibrionen beobachtet wurden.

Es sind also die Mutationerscheinungen zur Unterscheidung der choleraähnlichen Vibrionen vom echten Choleraerreger nicht geeignet.

Ad 3. Ebensowenig können sie als Unterscheidungsmerkmale zwischen den einzelnen Arten der choleraähnlichen Vibrionen gelten. Fanden wir doch bei allen 8 pathogenen

choleraähnlichen Vibrionen die Haupttypen (granulierte und gerunzelte Kolonien) der Mutationsformen vertreten, und wenn auch bei manchen Vibrionen die gerunzelten Formen auf gewöhnlichem Agar nicht zur Entwicklung kamen, so konnten sie doch auf Endo- oder Drigalski-Conradi-Platten beobachtet werden, wo sie, wenn nicht am 1. oder 2., am 3. oder 4. Tage in Erscheinung traten.

Nur bei den nichtpathogenen Mikroben konnten wir keine gerunzelte Mutationsform beobachten; unter diesen befindet sich aber *Vibrio* No. 1012, bei dem es überhaupt nicht gelang, Mutationerscheinungen auszulösen, und *Vibrio* No. 21, welcher nach Untersuchungen Baerthleins, eigentlich nicht den Vibrionen, sondern der *Bac. faecalis alcaligenes*-Gruppe zuzurechnen ist.

Weiteren Untersuchungen muß es vorbehalten werden, die Frage zu entscheiden, ob nur pathogene choleraähnliche Vibrionen gerunzelte, mutierende Kolonien zustande zu bringen fähig sind, oder ob es nur ein besonderer Zufall ist, daß die Methoden, mit deren Hilfe bei allen unseren pathogenen Vibrionen Mutationerscheinungen hervorgerufen werden konnten, bei dem von mir gezüchteten nichtpathogenen *Vibrio* fehlgeschlagen sind<sup>1)</sup>.

**Nachtrag bei der Korrektur.** Nach Abschluß vorliegender Arbeit gelang es mir, noch 2 weitere choleraähnliche Vibrionenarten aus Stühlen zu isolieren, die wegen Choleraverdacht zur Untersuchung gelangten. Beide Fälle bieten Eigentümlichkeiten, die ihre kurze Beschreibung rechtfertigen.

*Vibrio* No. 3749 (Fall XI) wurde aus den von Makó eingesandten, stark stinkenden, dünnflüssigen, grauweißen Entleerungen einer 25-jährigen Frau gewonnen. In Abstrichen aus den Faeces auf Objektträger sah ich keine Vibrionen, auch in Ausstrichen auf Kochs alkalischem und Dieudonné's Blutalkaliagar wurden keine Vibrionen beobachtet; hingegen entwickelten sich solche nach Aussaat aus einer Peptonwasservorkultur auf Kochs alkalischem und Dieudonné's Blutalkaliagar. Während aber auf ersterem grau durchscheinende Kolonien mit glatter und glänzender Oberfläche wuchsen, gingen auf Dieudonné-Platten gekörnte, mattglänzende Kolonien an. Letztere zeigen bei schwacher Vergrößerung ein helles Netz mit fein gekörnten, dunklen Feldern. An anderen Kolonien läßt sich ein dunkles Netz mit heller Felderung beobachten. An manchen 5 Tage alten Kolonien ist eine radiäre Zeichnung bemerkbar mit dunklen, kolbigen, an *Actinomyces*-Drusen erinnernden Strahlen. Die glatten Kolonien bestehen aus mückenschwarmartig beweglichen, die gekörnten aus nur molekulare Bewegung zeigenden choleraähnlichen Vibrionen.

Es muß noch hervorgehoben werden, daß unser Dieudonné-Agar diesmal nicht ganz der ursprünglichen Vorschrift entsprach, denn es wurde anstatt einer frischen, eine seit mehreren Monaten aufbewahrte Blutalkalilösung verwendet. Auf mit frischer Blutalkalilösung bereiteten Dieudonné-Platten, wie auch auf gewöhnlichem und Kochs alkalischem Agar, gingen selbst dann, wenn gekörnte („mutierende“) Kolonien überpflanzt wurden, nur glatte choleraähnliche Vibrionen an.

Nach wenigen (etwa 4–5) Agarpassagen aber entwickelten sich auf den genannten Nährböden meistens gekörnte Kolonien mit radiärer oder netziger Zeichnung.

Dieser Fall lehrt also, daß Mutationstypen bei choleraähnlichen Vibrionen schon in Ausstrichen aus Peptonwasseranreicherungen erscheinen können, wie dies für den Choleraerreger von Gildemeister und Baerthlein (München. med. Wochenschr. 1915. S. 705) schon früher in mehreren Fällen nachgewiesen wurde. Das Eigentümliche ist noch dabei, daß mutierende Kolonien anfangs nur auf modifiziertem Dieudonné-Agar und erst nach wenigen Agarpassagen auch auf dem originalen Dieudonné'schen Blutalkaliagar und auf anderen Nährböden gewachsen sind.

1) Anmerkung bei der Korrektur. Der im Nachtrag beschriebene Fall XI liefert den Beweis, daß auch nichtpathogene choleraähnliche Vibrionen mutierende Kolonien bilden können.

**Vibrio No. 3749** verhält sich übrigens kulturell fast wie **Vibrio No. 277**, nur bringt er Milch (nach 5 Tagen) zur Gerinnung; außerdem ist er für Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben nicht pathogen. Das Serum eines mit **Vibrio No. 3749** intravenös gespritzten Kaninchens agglutinierte den homologen Vibrionstamm bis zu einer Verdünnung von 1:5000, den **Vibrio No. 386** bis 1:200, die übrigen 10 Vibrionen überhaupt nicht. — Die serologische Verwandtschaft mit **Vibrio No. 386** äußerte sich auch bei der Komplementbindungsreaktion: Immunsrum No. 3749 fixierte zwar Meerschweinchenkomplement nur mit dem homologen **Vibrio** vollständig, aber in der Reihe der übrigen 11 choleraähnlichen Vibrionen wies **Vibrio No. 386** die stärkste Komplementbindungsreaktion auf.

Das geschilderte Verhalten läßt eine nähere Artverwandtschaft der letztgenannten 2 Vibrionenstämme vermuten, doch einzelne Verschiedenheiten in ihren kulturellen und biologischen Eigenschaften [**Vibrio No. 386** bildet in Loeffler I eine Kahmhaut, was bei **Vibrio No. 3749** nicht der Fall ist; **Vibrio No. 386** ruft in Lackmuskolke nach anfänglicher Rötung einen blauen, **Vibrio No. 3749** einen roten Farbumschlag hervor; ersterer gibt eine positive, letzterer eine negative Nitrosoindolreaktion; **Vibrio No. 386** ist für Meerschweinchen pathogen, **Vibrio No. 3749** hingegen nicht] mahnen zur Vorsicht, daß das Ergebnis der Immunitätsreaktionen doch nicht ohne weiteres als Beweis einer Artgleichheit der betreffenden Vibrionenstämme betrachtet werden sollte. Besonders ist noch zu beachten, daß **Vibrio No. 386** auch vom Immunsrum No. 266 in schwacher Verdünnung (1:200) agglutiniert wurde, was ich oben aus dort angeführten Gründen als Mitagglutination deutete. Da die Immunitätsreaktionen mit **Vibrio No. 386** und Immunsrum No. 3749 schwach positiv ausfielen, und auch kulturelle wie biologische Verschiedenheiten zwischen den genannten 2 Vibrionenstämmen vorliegen, so kann den ohnehin schwach positiven Immunitätsreaktionen in diesem Falle keine artbestimmende Bedeutung zuerkannt werden, und die Agglutination ist als eine unspezifische Mitagglutination aufzufassen.

**Vibrio No. 3751** (Fall XII) wurde aus dem Dünndarminhalt eines 54-jährigen, mit choleraverdächtigen Symptomen am 9. August 1917 in Orosháza verstorbenen Landmannes reingezüchtet. Schon im Ausstrich des dünnflüssigen, rötlichbraunen, stark fäkulent riechenden Darminhaltes sah ich unter vielen Kokken und kurzen Bazillen vereinzelte choleraähnliche Vibrionen. Diesmal erhielt ich aber nicht nur in den ersten Peptonwasserröhrchen eine fast reine Vibrionenkultur, sondern es entwickelten sich auch in direkt aus dem Darminhalt gemachten Ausstrichen auf Kochs alkalischem Agar und Dieudonné-Platten zahlreiche feine choleraähnliche Vibrionenkolonien, die von einem hochwertigen Choleraserum nicht agglutiniert wurden. Für Kaninchen, Meerschweinchen erwies sich dieser **Vibrio** stark pathogen. Seinem kulturellen Verhalten nach steht er den Vibrionen No. 75, 78 und 1287 am nächsten, nur ist die Nitrosoindolreaktion bei **Vibrio No. 3751** negativ. Das durch intravenöse Einspritzung von **Vibrio No. 3751** gewonnene Kaninchenimmunsrum (Titer 1:1000) agglutinierte nur den homologen **Vibrio**, die übrigen 11 Vibrionen selbst bei ganz schwacher Verdünnung (1:10) nicht.

Dieser Stamm ist also wieder als eine besondere Vibrionenart zu betrachten. Die zwei letzten Fälle eingerechnet, fanden sich also unter 12 Vibrionenstämmen 10 besondere Arten.

#### Literaturverzeichnis.

- Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. S. 329.  
 — ebenda. Bd. 71. S. 4.  
 — Centralbl. f. Bakt. Referate. Bd. 50. S. 128.  
 Bail, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. S. 272.  
 Bernhardt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71.  
 Dold u. Harris, Deutsch. med. Wochenschr. 1909. No. 6.  
 Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. S. 1.  
 Gasiorowski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 72. 1912. S. 530.  
 Gieszczykiewitz u. Sierakowski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. S. 466.  
 Gotschlich, F., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 53. 1906.  
 Gotschlich, E., Hetsch, Kolle, Lentz u. Otto, Zeitschr. f. Hyg. 1903.  
 Hage, München. med. Wochenschr. 1916. S. 729.  
 Horowitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911.  
 Kandiba, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911.  
 Kolle u. Schürmann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. 2. Aufl. Bd. 4. S. 99.  
 Kutscher u. Peters, München. med. Wochenschr. 1915. S. 1198.  
 Lénárd, Orvosi Hetilap. 1912. S. 417.  
 Olsson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. S. 23.  
 Sparmberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. 1912. S. 411.  
 Wankel, ebenda. Bd. 71. 1912.  
 Zlatogoroff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909; Bd. 58. 1911. S. 33. (G. C.)



*Nachdruck verboten.*

## Ueber spontan agglutinierende Typhusbazillen.

[Aus dem k. u. k. bakteriolog. Laboratorium No. XVIII in Debreczen.]

Von Priv.-Doz. Dr. Fritz Verzár, k. u. k. Oberarzt d. R.

Bei der bakteriologischen Untersuchung zahlreicher Urinproben von Typhusrekonvaleszenten begegneten mir in den letzten Jahren mehrere Male typhusähnlich wachsende, jedoch spontan, bereits in physiologischer Kochsalzlösung, agglutinierende Kolonien. In der Literatur war damals kein Fall beschrieben, in welchem frisch aus dem Körper gezüchtete Typhusbazillen spontan agglutinierten; von mancher Seite hielt man das sogar direkt für einen Gegenbeweis für die Typhusnatur jener Bazillen und die entscheidende agglutinatorische Prüfung war eo ipso nicht durchführbar. Deshalb war es von besonderem Interesse, als in dem folgenden Falle die direkte Umwandlung eines normalen Typhusstammes in einen spontan agglutinierenden im Körper eines Dauerausscheiders beobachtet wurde.

Sz. G. erkrankte am 6. März 1916 an einem schweren Typhus, und die bakteriologische Untersuchung als er als Rekonvaleszent am 28. Juni zu mir gelangte, ergab im Urin Reinkultur von Typhusbazillen. Dieser Befund wurde seither wöchentlich wiederholt, so auch am 5. Okt. Am 10. Okt. waren die typhusähnlich wachsenden Kolonien plötzlich stark spontan agglutinierend geworden, so daß, wenn dieser Fall nicht bereits bekannt gewesen wäre, die Diagnose auf die gewohnte Weise nicht durchführbar gewesen wäre.

Nun bleiben diese Kulturen beständig spontan agglutinabel, wobei eine massenhafte Ausscheidung in Reinkultur stattfindet. Die Bazillen agglutinieren bereits im Urin und bilden einen flockigen, dicken Bodensatz in der Flasche. Gegenwärtig (3. März 1917) besteht die Bakteriurie spontan agglutinierender Bazillen noch immer. Das Blutserum agglutiniert einen Laboratoriums-Typhusstamm am 1. Okt. 1917 in einer Konzentration von 1:12800. Der Urin agglutiniert nicht. Im Stuhl waren niemals Typhusbazillen zu finden.

Während der Bearbeitung dieses Falles<sup>1)</sup> hat auch Gildemeister (1) in einer Untersuchung „Ueber Variabilitätsänderungen des Typhusbacillus, die bereits bei seiner Isolierung aus dem infizierten Organismus auftreten“, die ersten Fälle von aus dem Urin von Typhusrekonvaleszenten gezüchteten, spontan agglutinierenden Typhusstämmen mitgeteilt. In 4 Fällen fand er neben normalen Formen auch einzelne spontan agglutinierende, von ihm nach Lingelsheim (2) als Q-Formen bezeichnete Kolonien. Die Diagnose war, da immer auch normale Kolonien vorhanden waren, leicht zu stellen. Nur in Fall 2 wurden bei der dritten Untersuchung ausschließlich Q-Formen gefunden. Dieser Fall ist der einzige bisher bekannte, welcher in Parallele mit obigem Sz. G. steht. Die Bearbeitung des letzteren Falles dürfte jedoch nicht nur in bezug auf Gildemeisters Fälle, sondern auch von anderen Gesichtspunkten aus Interesse bieten, insbesondere da auch eine Methode zur agglutinatorischen Bestimmung gefunden wurde.

Durch künstliche Methoden war allerdings auch früher schon das Auftreten spontaner Agglutination beobachtet worden. So haben Porges und Prantschoff (3),

1) Mir erst bei der Niederschrift bekannt geworden.

ähnlich wie Hamburger (4) bei Cholerastämmen, durch Züchtung in Immunsorum spontan agglutinable Stämme erhalten. Kirstein (5) fand durch Züchtung auf eiweiß-freiem Asparaginagar unter 9 Fällen 1 spontan agglutinierenden. Nach 9—10 Ueberimpfungen verlor dieser die spontane Agglutination. Ähnliches wurde auch von Valagussa (6) beobachtet. In jüngster Zeit haben Wagner und Emmerich (7) bei künstlich infizierten und zu Dauerausscheidern gewordenen Kaninchen unter vielen Tieren einmal einen spontan agglutinierenden Stamm aus Gallenblase, Darm und Leber gezüchtet.

In der obigen Krankengeschichte ist der direkte Uebergang eines normalen Typhusstammes in eine spontan agglutinierende Variation beobachtet worden, ohne daß hierfür eine besondere Ursache bemerkt werden konnte. Die Tatsache, daß spontane Agglutination erreicht werden kann durch Züchtung auf spezifisches Agglutinin enthaltendem Nährboden einerseits, ferner die Tatsache, daß aus Blut und Stuhl während des Bestehens des Typhus noch niemals spontan agglutinierende Stämme gezüchtet wurden, und daß, wie es scheint, alle bisher bekannt gewordenen Fälle von Bazillenträgern bzw. Dauerausscheidern (auch der Fall bei einem Kaninchen) stammen, deren Blutserum oft einen sehr hohen Gehalt an Immunoagglutinin hat (in unserem Falle Titer 1 : 12 800), legt den Gedanken nahe, daß die Ursache für das Auftreten dieser Variation im Agglutiningehalt des Nährbodens zu suchen sein dürfte. Dabei ist allerdings daran zu erinnern, daß bei Züchtung auf agglutininhaltigem Nährboden gerade auch hypagglutinable Stämme gewonnen wurden, wie ja auch bei Dauerausscheidern die spontan agglutinierende Variation eine Seltenheit ist.

Alle Versuche, kulturell die spontane Agglutination zum Verschwinden zu bringen, sind bei diesem Falle mißglückt. Ueberimpfung bis zu 20mal gab immer noch ebenso spontan agglutinierende Stämme. Ebenso wenig führte Aenderung des Nährbodens oder sogar Tierpassage (Meerschweinchen) zu einem Rückschlag auf den normalen Typ. Dagegen waren 4—6 Wochen alte Kulturen nicht spontan agglutinierbar, hatten aber auch ihre spezifische Agglutination fast ganz eingebüßt. Nachdem sie aber überimpft waren, gaben sie bereits in der ersten Kultur wieder die spontan agglutinierende Variation. Sonst wuchsen sie auf den verschiedenen Nährböden typhusähnlich, allerdings mit geringen Unterschieden, wie sie von Gildemeister beschrieben wurden. Nur in Bouillon war ihr Wachstum auffallend. Ebenso wie in Urin, bildeten sie hier, da sie ja spontan agglutinierten, einen flockigen, voluminösen Bodensatz. All das steht in Uebereinstimmung mit den bisherigen Beobachtungen, von welchen allerdings manche nach Ueberimpfung sehr alter Kulturen wieder Rückschläge zum normalen Typ erhalten konnten [Bernhardt und Ornstein (8), Gildemeister (1)].

Da die Agglutination mit spezifischem Serum bei einem spontan agglutinierenden Stamm nicht durchführbar, andererseits dieselbe bei der Diagnosestellung von entscheidender Bedeutung ist, so kann in einem solchen Falle die Typhusdiagnose sehr erschwert sein.

Friedberger und Lürssen (9) haben von ähnlichen Schwierigkeiten bei einem spontan agglutinierenden Cholera-stamm berichtet. Porjes und Prantschoff dachten auch daran, daß ein solcher Fall diagnostische Schwierigkeiten bereiten könnte, erwähnen aber, daß in der Literatur kein derartiger Fall bisher beschrieben ist. Auch Gildemeister bemerkt, daß der einzige von ihm beobachtete Fall, in welchem in einem späteren Stadium nur spontan agglutinierende Formen vorkamen, diagnostische Schwierigkeiten hatte bereiten können, wenn er nicht bereits vorher als Typhus bekannt gewesen wäre. Dasselbe gilt auch für diesen Fall Sz. G., während bei meinen

früheren Fällen die endgültige Diagnose nicht ausführbar war. Gildemeister hat, um einen solchen spontan agglutinierenden Stamm dennoch diagnostizieren zu können, zwei Methoden versucht: 1) die Züchtung auf Rhamnoseagar nach Reiner Müller; hierzu bemerkt er jedoch, daß das Wachstum auf diesem dennoch nicht beweisend sei; 2) den Castellianischen Versuch, welcher „mit einiger Reserve“ zu benutzen wäre.

Da es mir, wie erwähnt, nicht gelungen war, durch Kultur die spontane Agglutination zum Schwinden zu bringen und die obigen Methoden keine endgültige Entscheidung geben konnten, versuchte ich durch Beeinflussung der Agglutinationsreaktion selbst, einen Weg zu finden, um doch eine agglutinatorische Diagnose zu ermöglichen. Nebenbei sei bemerkt, daß es ja hätte versucht werden können, durch Komplementbindung oder durch Antigenwirkung den Beweis zu führen. Letzteres kam aber schon wegen der zu langen Zeitdauer nicht in Betracht.

Die wichtigen Untersuchungen von Porges und Prantschhoff gaben den Punkt, an welchen angeknüpft und versucht werden sollte, auf welche Weise eine stabile Suspension, eine nicht spontan agglutinierende Aufschwemmung hergestellt werden könnte, welche trotzdem spezifisch agglutinierbar wäre. Andererseits war es von Interesse, diesen frisch aus dem Körper gezüchteten, spontan agglutinierenden Stamm bezüglich seiner Eigenschaften mit den künstlich spontan agglutinierend gemachten Stämmen von Porges und Prantschhoff zu vergleichen.

Nach diesen Autoren schützt eine große Menge von normalem, noch besser Immunoagglutinin enthaltendem Serum, besonders wenn letzteres vorher erwärmt war, vor Spontanagglutination. Mein Stamm zeigte ein anderes Verhalten: sowohl in gewöhnlichem, wie in erwärmtem spezifischem Serum war die Spontanagglutination bei keiner Konzentration (von reinem Serum bis zur 500-fachen Verdünnung) aufgehoben. Im Gegenteil erfolgte die Agglutination in jedem Falle noch rascher als in reinem Kochsalz. Dieser Stamm besitzt demnach auch noch eine nicht-spezifische Serumagglutinabilität. Der Ueberschuß von Serum wirkt hier nicht wie ein Schutzkolloid bei der Kolloidfällung.

Porges und Prantschhoff zeigten ferner, daß ihre Typhusstämmen bei 1-stündigem Erwärmen auf 65–80° C ihre spontane Agglutinabilität verlieren, welche bei 100° C wieder zurückkehrt. Gegenüber den Cholerastämmen Hamburgers, welche bei 80° ihre spontane Agglutinabilität verloren, dagegen ihre spezifische behielten, war ihr Verhalten ein anderes, da die spezifische Agglutination auch verloren ging. Während bei spontan agglutinierenden Cholerastämmen eine Diagnose so mit Leichtigkeit auszuführen ist, denken Porges und Prantschhoff nur daran, daß etwas Ähnliches vielleicht trotzdem zur Typhusdiagnose spontan agglutinierender Fälle ausgearbeitet werden könnte. Mein Stamm zeigte das folgende Verhalten:

Einstündiges Erwärmen auf	Spontane Agglutination	Spezifische Agglutination mit Serum vom Titer 1:64000
100° C	verschwunden	1:10 positiv
80° C	„	1:1600
60° C	„	a) 1:800; b) 1:1600; c) 1:64000 positiv

Ein Unterschied zeigt sich insofern, als es nicht gelang, bei 100° C die spontane Agglutination wieder zum Erscheinen zu bringen; ferner

darin, daß es gelang, bei 60° die spontane Agglutination zum Verschwinden zu bringen, während die spezifische Agglutination (wie auch schon bei 80°) zum Teil vorhanden blieb, einmal sogar bis zum Endtiter, sonst nur weit weniger. Die Methode könnte diagnostisch verwendet werden; ihr Resultat war aber trotz gleicher Methodik unsicher, könnte aber wahrscheinlich verbessert werden. Ich habe mich mit einer weiteren Untersuchung dieser Frage nicht beschäftigt, da es auf eine viel exaktere Weise gelang, die Aufgabe zu lösen.

Bordet (10) und andere haben nachgewiesen, daß die spontane Agglutination nur in Gegenwart von Salzen zustande kommt. Bereits minimale Salzmengen, wie sie in gewöhnlichem destilliertem Wasser vorhanden sind oder durch Beimischung der Kultur hineingelangen, genügen, um spontane Agglutination hervorzurufen. Erst durch mehrtägige Dialyse der Aufschwemmung war eine salzfreie und stabile Suspension zu erhalten.

Bei einer Prüfung des Stammes Sz. G. im November 1916 agglutinierte dieser mit gewöhnlichem destilliertem Wasser auch spontan sofort. 6 Wochen später wurde versucht, durch Dialyse eine stabile Suspension zu erhalten. Es zeigte sich jedoch, daß inzwischen der Stamm (im Körper des Kranken) sich so verändert hatte, daß er in gewöhnlichem destilliertem Wasser stabil blieb, d. h. nicht agglutinierte. Er schien also salzfester geworden zu sein; die Bazillen vertrugen nun größere Salzkonzentrationen als früher. Bis zu welcher Grenze das möglich war, zeigt der folgende Versuch mit verschiedener konzentrierter Kochsalzlösung:

NaCl-Konzentration %	0,850	0,765	0,680	0,595	0,510	0,425	0,340	0,255	0,170	0,085	0
Bazillen	aggl.	aggl.	aggl.	aggl.	aggl.	stabil	stabil	stabil	stabil	stabil	stabil

Man sieht, daß bei einer Verdünnung der physiologischen Kochsalzlösung auf die Hälfte, d. h. bei einer 0,425-proz. Kochsalzlösung, keine spontane Agglutination eintrat.

Es war nun von Interesse, zu prüfen, ob die spezifische Agglutination ausführbar ist bei einer solchen Salzkonzentration, bei welcher dieser Stamm sonst noch eine stabile Suspension gibt. Setzt man in destilliertem Wasser verdünntes spezifisches Serum einer stabilen Aufschwemmung der Kultur in destilliertem Wasser zu, so erfolgt gar keine Agglutination. Salz ist also zur Reaktion unter allen Umständen nötig. Es wurde deshalb die Agglutinationsprobe in folgender Weise, bei einer Salzkonzentration von 0,255 Proz. NaCl, bei welcher die Emulsion ganz stabil ist und welche man sich einfach durch Verdünnung von 0,3 ccm physiologischer NaCl-Lösung mit 0,7 ccm destilliertem Wasser herstellt, ausgeführt (s. Tabelle S. 165).

Es gelingt also, diesen „spontan agglutinierenden“ Stamm mit spezifischem Serum bis zum Endtiter zu agglutinieren, während die Kontrolle in 0,255-proz. Kochsalzlösung (No. 11) stabil bleibt und die andere Kontrolle (No. 12) in 0,765-proz. Kochsalzlösung spontan agglutiniert. Dabei äußert sich die große Empfindlichkeit dieses Stammes immer noch darin, daß er bei derselben Kochsalzkonzentration von Paratyphus A- und B-Serum und selbst von nicht artverwandtem, z. B.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Bakterienemulsion in destilliertem Wasser	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Physiologische NaCl-Lösung	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,9
Destilliertes Wasser	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—
Spezifisches Serum in destilliertem Wasser	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—
Verdünnung Titer 1:64 000	100	200	400	800	1600	3200	6400	12 800	25 600	51 200	102 400	0
Agglutination nach 18 Stunden	++	++	++	++	++	++	++	+	+	±	—	+

Shiga-Kruse-Serum, bis zu  $\frac{1}{7}$ — $\frac{1}{3}$  des Endtiters des entsprechenden Serums mitagglutiniert wird (Stamm vom 25. Jan. 1917).

Auf diese Weise ist die agglutinatorische Diagnose dieses Falles bei vielen Gelegenheiten zu verschiedenen Zeiten ausgeführt worden. Dabei zeigte sich die interessante Erscheinung, welche bereits oben erwähnt wurde, daß die Salzstabilität des Stammes nach und nach zunimmt, als ob die spontane Agglutinabilität mit der Zeit zum Verschwinden kommen würde. Bei der Probeagglutination äußert sich das darin, daß die Agglutination in einem Tropfen physiologischer NaCl nun langsamer und sehr feinflockig zustande kommt. Bei Austitrierung der Salzgrenze ergab sich manchmal Stabilität bis zu einer Konzentration von 0,595 Proz. NaCl. Neuerdings erfolgen wieder Rückschläge.

Auf die beschriebene Weise könnte wahrscheinlich jeder spontan agglutinierende Fall agglutinatorisch bestimmt werden. Da solche Fälle gar nicht so selten zu sein scheinen, so könnte die Methode von praktischem Wert sein. Man hat also zuerst auszutitrieren, bis zu welcher Kochsalzkonzentration der Stamm stabil ist, und dann nach obigem Rezept die agglutinatorische Prüfung bei einer solchen Kochsalzkonzentration auszuführen, welche noch unterhalb der „spontan agglutinierenden“ Konzentration liegt. Einige Schwierigkeiten könnten nur bei solchen Stämmen entstehen, welche so empfindlich sind, daß sie bereits in destilliertem Wasser agglutinieren. Solche müßten zuerst dialysiert werden. Leider fehlt mir eine entsprechende Erfahrung. Doch kommen solche sehr salzempfindliche Stämme vielleicht seltener vor, als man denkt. [So findet sich z. B. in einer Tabelle von Porges und Prantschoff ein Fall, welcher bei  $\frac{7}{8}$  NaCl = 0,72 Proz. NaCl noch stabil war.] Gegenüber anderen Methoden hat diese alle Vorteile der Einfachheit und Sicherheit.

### Zusammenfassung.

Bei einem Dauerausscheider wurde die Umwandlung eines Typhusstammes in eine spontan agglutinierende Varietät beobachtet. Im Urin von Dauerausscheidern scheinen solche Befunde nicht gar zu selten zu sein. Wenn der Uebergang nicht beobachtet wird, so ist die Diagnose eines solchen spontan agglutinierenden Stammes mit den gewöhnlichen Methoden unmöglich. Bei der Untersuchung eines solchen Stammes konnten kulturell keine Rückschläge erreicht werden und auch sonst

ergab dieser verschiedene Unterschiede gegenüber künstlich spontan agglutinierbar gemachten Stämmen. Der untersuchte Stamm war noch bei einer halben Verdünnung der physiologischen Kochsalzlösung stabil. Auf Grund dessen konnte eine Methode angegeben werden, bei welcher eine agglutinatorische Diagnose trotz der spontanen Agglutination ausführbar war.

#### Literatur.

- 1) Gildemeister, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 129.
- 2) Lingelsheim, ebenda. Bd. 68. 1913. S. 577.
- 3) Porges u. Prantschoff, ebenda. Bd. 41.
- 4) Hamburger, zit. nach Kraus-Levaditi, Handb. Bd. 3. S. 636.
- 5) Kirstein, zit. nach Porges u. Prantschoff.
- 6) Valagussa, zit. nach Kraus-Levaditi, Handb. Bd. 3. S. 636.
- 7) Wagner u. Emmerich, Med. Klin. Bd. 33. 1916. S. 879.
- 8) Bernhardt u. Ornstein, zit. nach Gildemeister.
- 9) Friedberger u. Lürssen, Deutsch. med. Wochenschr. 1905. S. 1597.
- 10) Bordet, zit. nach Kraus-Levaditi, Handb. Bd. 3. S. 636.

(G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Vergleichende Untersuchungen über die Erreger des Gasbrandes und des malignen Oedems.

[Aus dem Hygienischen Institut der Freien und Hansestadt Hamburg  
(Direktor: Prof. Dr. Dunbar).]

Von Dr. Walter Gaetgens.

Unsere Kenntnisse über malignes Oedem und Gasbrand sind durch die in den Kriegsjahren gesammelten Erfahrungen nicht unwesentlich bereichert und erweitert worden. Daß in der Frage der Aetiologie der sogenannten Gasbrandkrankungen bisher noch keine Einigkeit hat erzielt werden können, erklärt sich durch die vorherrschende Gepflogenheit, Erkrankungen, die sich klinisch, bzw. anatomisch als Gasbrand äußern, unbekümmert um den Erreger, ohne weiteres als Gasbrand zu bezeichnen. Gegen diese Auffassungsweise hat sich E. Fraenkel (1, 2) auf das entschiedenste gewandt und, meines Erachtens mit Recht, betont, daß eine befriedigende Lösung des Problems nur dann zu erreichen ist, wenn der ätiologische Standpunkt in den Vordergrund gestellt wird. Nach den langjährigen Erfahrungen Fraenkels, die im Kriege von vielen Seiten aufs neue bestätigt werden konnten, kommt als Erreger der echten Gasbrandkrankungen vornehmlich der Fraenkelsche Gasbrandbacillus in Frage. Erkrankungen, die zwar klinisch als Gasbrand imponieren, aber durch Bazillen aus der Gruppe des malignen Oedems hervorgerufen werden, sind nicht als Gasbrand aufzufassen, sondern gehören in das Gebiet des malignen Oedems.

Dieser Auffassung ist eine Reihe von Autoren beigetreten, unter denen ich namentlich Ghon (3) anführen möchte. Ghon führte vor etwa einem Jahre aus, daß malignes Oedem und Gasbrand klinisch und anatomisch zwar vielfache Berührungspunkte haben und deshalb nicht immer auseinandergehalten werden, ätiologisch aber voneinander getrennt werden müssen. Als Erreger dieser Wundinfektionen kommen zwei Anaëroben Gruppen in Betracht. Dieses sind auf der einen Seite die Gruppe des malignen Oedembacillus mit dem beweglichen Kochschen Oedembacillus als Hauptvertreter, auf der anderen Seite die Gruppe des Gasbrandbacillus mit dem unbeweglichen Fraenkelschen Gasphlegmonebacillus als Hauptvertreter; beide Arten haben Verwandte und Gruppenangehörige, sind aber scharf voneinander zu trennen.

Neuerdings hat jedoch Ghon (4), wie hier gleich erwähnt sei, auf Grund eigener Beobachtungen und unter dem Einfluß der noch zu erwähnenden Untersuchungen von Aschoff und seinen Mitarbeitern, Conradi und Bieling u. a., diesen ätiologisch-dualistischen Standpunkt nicht unwesentlich geändert. Er nimmt an, daß der Fraenkelsche Bacillus nicht mehr als unbewegliche Art zu gelten habe und daß „die als Gasbrand bezeichnete Wundinfektion durch eine bestimmte anaërobe Bazillengruppe hervorgerufen wird, die Eigenbewegung als Gruppenmerkmal besitzt und eine Reihe von Arten umfaßt, denen die Fähigkeit der Kohlehydratvergärung und Eiweißfäulnis in verschiedenem Maße, manchmal nur unter bestimmten Bedingungen, zukommt und deren Differenzierung noch vielfach Schwierigkeiten bereitet“. Gleich Ghon, der in allen seinen Gasbrandfällen immer nur bewegliche und sporulierende Bazillen als Infektionsursache hatte nachweisen können, vermochten auch Aschoff (5) und seine Mitarbeiter Fränkel, Frankenthal und Königsfeld (6) in einer größeren Reihe von als Gasödem bezeichneten Erkrankungen nur eine bewegliche, dem Ghon-Sachschen Bacillus nahestehende Bakterienart, die wie Gasödembacillus nennen, zu isolieren, und folgern daraus die Vielheit der Gasbranderreger. Ferner züchteten Busson und György (7) vorwiegend aus klinisch typischen Gasbrandfällen einen beweglichen, sporenbildenden Bacillus, der dem Aschoffschen nahezu stehen scheint. Auch sie ziehen aus ihren Beobachtungen den Schluß, daß weder die Aetiologie des malignen Oedems, noch die des Gasbrandes eine einheitliche ist, daß vielmehr verschiedene Anaërobier unter bestimmten Verhältnissen die Fähigkeit besitzen, die eine oder die andere der beiden Erkrankungen hervorzurufen.

Noch weiter gingen schließlich Conradi und Bieling (8), die, auf Grund sehr ausgedehnter Beobachtungen, die These aufstellten, daß nur eine einzige Bakterienart, der von ihnen in 90 Gasbrandfällen isolierte *Bacillus sarcemphysematodes hominis*, die Ursache der in Frage kommenden anaëroben Wundinfektionen sei, und daß alle bisher als besondere Arten (Rauschbrandbacillus, Bacillus des malignen Oedems, Bac. Ghon-Sachs u. a.) beschriebenen Formen nur als Zwischen- oder Endglieder in der Entwicklungsreihe einer vegetativen Grundform zu betrachten seien, als welche der Fraenkelsche Gasbacillus zu gelten habe. Zu diesem Schluß gelangten sie auf Grund von vergleichenden Untersuchungen über die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen ihrem Gasbrandbacillus, 3 Rauschbrandstämmen, 1 malignem Oedem- und 1 Fraenkel-Stamm. Bei Fortzüchtung dieser Kulturen auf erstarrtem Rinderserum und auf 1-proz. Traubenzuckeragar bildeten alle Stämme auf Zuckeragar den sogenannten vegetativen Formenkreis (A), auf Rinderserum den sogenannten sporogenen Formenkreis (B). Charakteristisch für den Kreis A waren die Unbeweglichkeit, der Mangel an Sporen und Geißeln, das Hervortreten der Zuckervergärung und die hohe Tierpathogenität. Der Formenkreis B war demgegenüber ausgezeichnet durch Beweglichkeit, die Bildung von Sporen und Geißeln, das Hervortreten des hämorrhagischen Oedems in vivo bei herabgesetzter Virulenz und die Produktion histogener Fäulnisgifte. Diese beiden Formenkreise sind nach Conradi und Bieling als Anfangs- und Endstadium des Entwicklungsverlaufes zu betrachten und lassen sich unter Bildung zahlreicher Zwischenstufen ineinander überführen. Die Metamorphose ist an die Art des Nährsubstrates gebunden, d. h. von dem Ernährungszustand der Kultur abhängig. Ohne Mühe soll die Uebersetzung des Formenkreises A in B gelingen, während die Rückverwandlung von B in A oft auf Schwierigkeiten stößt, da der B-Kreis seine Stämme stärker und nachhaltiger fixiert als der A-Kreis.

Diese Ergebnisse stellen nicht etwas absolut Neues dar; sie bestätigen vielmehr gleichartige Beobachtungen, die früher von Graßberger und Schattentfroh (9) gemacht worden sind. Nach Graßberger und Schattentfroh läßt sich der Rauschbrandbacillus beliebig in den Zustand erstens des „beweglichen“ Stäbchens, zweitens des „unbeweglichen“ Stäbchens = denaturierter Rauschbrand, welcher dem unbeweglichen Buttersäurebacillus (i. e. Fraenkelscher Gasbacillus) ähnelt, und drittens noch in den fäulnisserregenden Zustand überführen, wodurch er die Gruppe der Buttersäurebazillen mit den streng anaëroben Fäulnisserregern zwanglos verbindet. Auch der Gasbacillus lasse sich nach Belieben in einen unbeweglichen, asporogenen und in einen beweglichen, sporogenen Zustand überführen. Möglicherweise stellten die unbeweglichen Anaërobier vom Typus der Buttersäurebazillen bloß unbewegliche Zustände denaturierter, bzw. leicht denaturierbarer Buttersäurebazillen dar, deren sporogene, bewegliche Zustände bisher unbekannt oder mit anderen Namen bezeichnet worden sind.

Es bedarf keiner weiteren Erklärung, daß die Tragweite dieser Lehre von der Doppelnatur ein und derselben Bakterienart in theoretischer und praktischer Hinsicht von weitgehendster Bedeutung ist und daß dementsprechend schon die Untersuchungen von Graßberger und Schattentfroh zu Nachprüfungen Anregung gaben, die indes nicht zu einem eindeutigen Ergebnis geführt haben. Passini (10) konnte der Anschauung der Wiener Autoren auf Grund seiner Untersuchungen im wesentlichen bei-



stimmen. Hingegen nahm v. Hibler (11) zur Erklärung dieser eigenartigen Befunde eine Verunreinigung der Kulturen als wahrscheinlich an. Auch Fraenkel (12) konnte sich nicht von der Beweiskraft der Versuche überzeugen, und Werner (13) schließlich vermochte weder bei Züchtung auf erstarrtem Blutserum, noch auf koaguliertem Eiweiß die beschriebene Variabilität der Fraenkelschen Gasbazillen zu bestätigen.

Eine ebenso verschiedene Aufnahme, wie seinerzeit die Mitteilungen von Graßberger und Schattenfroh, haben heute die Feststellungen von Conradi und Bieling gefunden. Zustimmenden, bzw. mehr oder weniger bestätigenden Äußerungen von Fürth (14), Vogel (15) u. a. steht die Ablehnung der Conradischen Anschauung durch andere Autoren gegenüber. In einer sehr ausführlichen Kritik hat sich vor allem Fraenkel (2) noch in jüngster Zeit gegen Conradi und Bieling gewandt und die Richtigkeit der Ergebnisse hinsichtlich des Gasbacillus und die daraus gezogenen Schlüsse auf das entschiedenste in Zweifel gezogen. Nach seinen Untersuchungen behält der Fraenkelsche Gasbacillus seine charakteristischen Eigenschaften, ganz unabhängig von der Art der Züchtung, unverändert bei. Die gegenteiligen Resultate von Conradi und Bieling sind, wie Fraenkel (2) nachweisen konnte, durch Arbeiten mit unreinen Kulturen vorgetäuscht worden. Nach den bisherigen Erfahrungen komme vielmehr als Erreger des echten Gasbrandes nur der geißellose Fraenkelsche Gasbacillus in Betracht, weil er allein beim Meerschweinchen ein Krankheitsbild auszulösen vermag, das mit der menschlichen Gasbrandkrankung die weitgehendste Übereinstimmung zeigt. Diesem Postulate genügten die von Aschoff und seinen Mitarbeitern, Conradi und Bieling, Busson und György u. a. isolierten Bakterien nicht. Sie rufen vielmehr beim Meerschweinchen Erscheinungen hervor, die mehr oder weniger vollkommen dem Bilde des malignen Oedems entsprechen, und müssen demgemäß, ebenso wie der Ghon-Sachsche Bacillus, in die Gruppe der Bazillen des malignen Oedems eingereiht werden. Die Untersuchungen der genannten Autoren sprechen demnach nicht für die Vielheit der Gasbranderreger, sie sind vielmehr als Beweis dafür, was auch Fraenkel (16) auf Grund eigener Beobachtungen ausgesprochen hat, anzusehen, daß die Ätiologie des malignen Oedems keine einheitliche ist, und daß eine Reihe von verschiedenen Anaërobiern für die Entstehung dieser Krankheit, die sich klinisch unter Umständen auch als Gasbrand äußern kann, in Betracht kommt.

Angesichts dieser durch Fraenkel erfolgten Nachprüfung und Ablehnung der Untersuchungsergebnisse von Conradi und Bieling könnte es zwecklos erscheinen, weiteres über ähnlich verlaufene Versuche zu veröffentlichen. Wenn ich trotzdem auf Grund eigener Arbeiten zu der vorliegenden Frage Stellung nehme, so geschieht es einmal, weil die Wichtigkeit des Problems die wiederholte Nachprüfung von verschiedenen Seiten berechtigt erscheinen läßt, zumal Conradi und Bieling (17), trotz der Feststellungen Fraenkels, an ihren Anschauungen über die ätiologische Einheit des Gasbrandes festhalten. Andererseits sind meine Untersuchungen vielleicht auch geeignet, manche der Befunde Conradis und Bieling zu erklären und unsere Kenntnisse über die verwandtschaftlichen Beziehungen der erwähnten Anaërobier zueinander zu ergänzen bzw. zu erweitern.

## I.

Den unmittelbaren Anlaß zu den im folgenden geschilderten, vor fast 1 Jahre in Angriff genommenen Versuchen gab die Bearbeitung zweier Proben, die dem Hygienischen Institut von 2 hiesigen Lazaretten zur Untersuchung auf Gasbrandbazillen eingeliefert worden waren. In dem einen Falle (Mehrmann) handelte es sich um eine Eiterprobe, die von einer nach Schußverletzung aufgetretenen Gasphegmone herrührte. Der Originalausstrich ließ neben wenigen Kokken zahlreiche kurze, grampositive Stäbchen erkennen. Während in den aeroben Kulturen lediglich einige Staphylokokken nachweisbar waren, konnten durch die anaërobe Züchtung auf Zuckeragar ziemlich plumpe, vorwiegend grampositive Bakterien isoliert werden, die sich meist als kurze, oft paarweise an-

geordnete Stäbchen darstellten, teilweise aber auch längere Schnörkel- und Fadenformen erkennen ließen. Ovale Sporen fanden sich sowohl endständig als auch freiliegend; Beweglichkeit war vorhanden; peritrich angeordnete Geißeln ließen sich mittels der Zettnowschen Versilberungsmethode nachweisen; Kapselbildung fehlte. Auf Traubenzuckeragarplatten in Wasserstoffatmosphäre (Botkinscher Apparat) bildete der *Bacillus Mehrmann* flockige, ausgefrante Kolonien, die *Conradi* und *Bieling* sehr treffend mit faserigen Asbestflocken vergleichen. Sämtliche von mir geprüften 13 Kohlehydrate wurden unter Säure- und Gasbildung zerlegt, Lackmusmolke wurde gerötet und getrübt, gelegentlich auch entfärbt. Gelatine wurde verflüssigt, in der Milch das Kasein nach etwa 3 Tagen zur Gerinnung gebracht, erstarrtes Rinderserum verflüssigt, Menschenhirnbrei geschwärzt.

Für Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse besaß der Stamm *Mehrmann* ausgesprochene Pathogenität. Meerschweinchen erlagen der subkutanen, bzw. intramuskulären Infektion nach 2—3 Tagen und wiesen ein mächtiges, sanguinolentes Oedem auf, das sich von der Impfstelle aus über die ganze Bauchfläche erstreckte und in den Extremitätenbeugen von einigen kleinen Gasblasen durchsetzt war. Die Lungen waren blaß und emphysematös, die Milz klein und rot. In der Oedemflüssigkeit und spärlicher auch im Herzblut waren bewegliche, kurze, plumpe, grampositive Stäbchen nachweisbar. Auch bei dem 3 Tage nach der Impfung verendeten Kaninchen stand das Oedem im Vordergrund der Erscheinungen; daneben war recht starke Gasbildung aufgetreten; die Organe zeigten auch hier keinen besonderen Befund. In der Oedemflüssigkeit ließen sich viele bewegliche kurze, plumpe, grampositive Bazillen nachweisen, viele mit endständigen, andere mit mittelständigen Sporen (Wetzsteinformen). Ganz ähnlich war schließlich der Befund bei Mäusen, die 1—2 Tage nach der Impfung verendet waren und ebenfalls die ausgesprochenen Erscheinungen des malignen Oedems erkennen ließen.

In dem zweiten Falle *Linders* handelte es sich um eine nicht näher charakterisierte Erkrankung, von der dem Hygienischen Institute 2 Muskelstücke zur Untersuchung auf Gasbrandbazillen zugesandt wurden. Im direkten Ausstrich ließen sich vorwiegend kurze, plumpe, teils grampositive, teils -negative Stäbchen nachweisen. Während sich auf den aerob gehaltenen Platten einige *Coli*-Kolonien entwickelten, konnten durch die anaerobe Züchtung kurze, plumpe, vorwiegend grampositive Stäbchen isoliert werden, die sich von dem *Bacillus Mehrmann*, anfangs wenigstens, nur durch eine weniger ausgesprochene Grampositivität und eine geringere, oft schwer feststellbare Beweglichkeit unterschieden. In kultureller Hinsicht ließ sich fast durchgehends eine weitgehende Ähnlichkeit feststellen. Die Kolonien auf Zuckeragar zeigten ebenfalls das charakteristische Aussehen faseriger Asbestflocken. Sämtliche Kohlehydrate wurden unter Gas- und Säurebildung zerlegt, Lackmusmolke gerötet, getrübt und mehr oder weniger entfärbt, Gelatine verflüssigt, erstarrtes Rinderserum verflüssigt, Menschenhirnbrei geschwärzt; in Milch ließ sich die Kaseingerinnung mit nachfolgender Peptonisierung schon nach einem Tage feststellen. Auch die Pathogenität für Meerschweinchen und Mäuse (die Prüfung am Kaninchen unterblieb aus äußeren Gründen) äußerte sich in der gleichen Weise, wie beim Stamme *Mehrmann*. Bei den oft schon 1 Tag nach der Impfung verendeten Tieren stand das mächtige, himbeergeleefarbene Oedem, das sich fast über die ganze

Bauchfläche erstreckte und in den Schenkelbeugen von einigen kleinen Gasblasen durchsetzt war, im Vordergrunde der pathologischen Veränderungen. Regelmäßig ließen sich in der Oedemflüssigkeit die kurzen, plumpen, vorwiegend grampositiven und meist schwach beweglichen Bazillen nachweisen, die teils mit endständigen Sporen versehen waren, teils in Wetzsteinform mit mittelständigen Sporen auftraten.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß mir in zwei Fällen von menschlicher Gasbranderkrankung die Isolierung von exquisit anaëroben, grampositiven, beweglichen, sporenbildenden Stäbchen gelungen war, die sich als hochpathogen für Laboratoriumstiere erwiesen. Das morphologische und kulturelle Verhalten beider Stämme sowie die pathologischen Veränderungen, die sie beim Versuchstier hervorzurufen imstande waren, sprachen durchaus eindeutig dafür, daß beide Kulturen nicht als Fraenkelsche Gasbazillen angesprochen werden durften, sondern in die Gruppe des malignen Oedems eingereiht werden mußten. Es bestätigten also diese Befunde die Anschauung Fraenkels, daß es anaërobe Wundinfektionen gibt, die klinisch als Gasbrand verlaufen, ihrer Aetiologie nach aber in das Gebiet des malignen Oedems gehören.

## II.

Für mich ergaben sich weiter die Aufgaben, einmal festzustellen, ob es möglich wäre, die beiden Stämme durch fortgesetzte Züchtung auf Traubenzuckeragar in den vegetativen Formenkreis A Conradi und Bielings überzuführen und weiter ihre Beziehungen zu anderen in dieses Gebiet gehörenden Anaërobiern zu prüfen. Für diese vergleichenden Untersuchungen standen mir außer einer als malignes Oedem im hiesigen Institut seit Jahren fortgezüchteten Kultur 5 verschiedene, von menschlichen Erkrankungen isolierte Stämme zur Verfügung, die ich der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Dr. E. Fraenkel verdanke.

Die erstgenannte Kultur aus dem Institut, welche im folgenden kurz als malignes Oedem bezeichnet werden soll, bestand aus kurzen, plumpen, beweglichen Stäbchen, die nur unter anaëroben Bedingungen wuchsen, Sporen bildeten, peritrich begeißelt und grampositiv waren. Das kulturelle Verhalten entsprach durchaus dem der oben beschriebenen Stämme Linders und Mehrmann, so daß an der Zugehörigkeit zur Gruppe des malignen Oedems nicht gezweifelt werden konnte. Den endgültigen Beweis dafür durch den Tierversuch konnte ich leider nicht mehr führen, da der Stamm seine Tierpathogenität im Laufe der Jahre vollkommen eingebüßt hatte.

Von den 5 mir von Herrn Prof. Fraenkel überlassenen Kulturen gehörten 2 ebenfalls in die Gruppe des malignen Oedems. Die eine von ihnen (Stamm Fahr) erinnerte an den von Aschoff und seinen Mitarbeitern beschriebenen Gasödembacillus. Die vorwiegend grampositiven, kurzen, plumpen Stäbchen fanden sich in der Kultur oft paarweise gelagert und zeigten gelegentlich Ketten- und Fadenbildung. Die Beweglichkeit war wenig ausgeprägt, Sporenbildung vorhanden. Gelatine wurde verflüssigt, Traubenzucker vergoren, erstarrtes Rinderserum verflüssigt, Menschenhirnbrei nur spurweise geschwärzt. Der andere Stamm

(Malo a) ähnelte sowohl morphologisch als auch kulturell dem Ghon-Sachsschen Bacillus, indem er, wie dieser, weder Rinder Serum verflüssigte, noch Hirnbrei schwärzte. Die früher von Herrn Prof. Fraenkel geprüfte Tierpathogenität hatte die Zugehörigkeit beider Stämme zur Gruppe des malignen Oedems einwandfrei dargetan; zur Zeit meiner Versuche ließ sie sich nicht mehr nachweisen. Die übrigen 3 Kulturen waren echte Fraenkel-Stämme (I, II und III), die alle Charakteristika der Fraenkelschen Gasbazillen aufwiesen. Sie stellten sich als plumpe, grampositive, sporenfreie Stäbchen dar, die geißellos waren und Meer-schweinchen unter den typischen Erscheinungen des Gasbrandes (starke Gasentwicklung mit zunderartigem Zerfall des Unterhaut- und Muskelgewebes und Exsudation einer geruchlosen, hämorrhagischen Flüssigkeit) zu Fall brachten. Ein besonderes Interesse kam dem Stamm Fraenkel III zu, der seinerzeit von Herrn Prof. Fraenkel an Conradi und Bieling abgegeben und von diesen in dem oben besprochenen Sinne umgezüchtet worden war.

Bei der Nachprüfung der Conradi-Bielingschen Angaben schien es mir von besonderer Bedeutung, festzustellen, ob sich in der Tat der sporenfreie, geißellose Fraenkelsche Bacillus durch fortgesetzte Züchtung in einem eiweißreichen Nährmedium in ein begeißeltes, sporentragendes Stäbchen überführen ließe. Hand in Hand damit gingen Untersuchungen über die Frage, ob andererseits bei den Angehörigen der malignen Oedemgruppe die fortgesetzte Züchtung auf einem zuckerhaltigen Nährsubstrat den Verlust der Geißeln und Sporen zur Folge haben würde. Für den letztgenannten Zweck gebrauchte ich, unter Befolgung des Conradi-Bielingschen Verfahrens, den hochgeschichteten Traubenzuckeragar, während als eiweißreiche Nährböden erstarrtes Rinder Serum und Tarozzi-Bouillon, die den anaëroben Bakterien vortreffliche Wachstumsbedingungen bietet, in Anwendung kamen. Die Weiterzüchtung erfolgte, sobald in dem Zuckeragar bzw. der Tarozzi-Bouillon deutliches Wachstum mit Gasentwicklung und in dem Rinder Serum die ersten Spuren der Verflüssigung sichtbar geworden waren. Großes Gewicht legte ich auf die regelmäßige Kontrolle meiner Kulturen durch Abimpfung auf aërob bebrütete Nährsubstrate, um auf diese Weise etwaige Verunreinigungen durch aërobe Bakterien gleich feststellen zu können. Zu diesem Vorgehen wurde ich veranlaßt durch den zweimaligen Nachweis von beweglichen Sporenstäbchen in Rinder Serumkulturen des Fraenkelschen Gasbacillus, die eine Umwandlung im Sinne von Conradi und Bieling hätten vortäuschen können, sich aber bei der genaueren Untersuchung als fakultativ aërobe Bazillen erwiesen. Ob die Verunreinigung beim Ueberimpfen stattgefunden hatte, oder auf im Serum zurückgebliebene Sporenkeime, die der Sterilisationshitze widerstanden hatten, zurückzuführen war, vermag ich nicht zu entscheiden. Wahrscheinlicher dünkt mich die letztere Möglichkeit, da sie eine auch von v. Hibler (11) gemachte Erfahrung bestätigen würde. Dieser konnte sich mehrfach davon überzeugen, daß derartige Sporenkeime im Serum selbst der 3mal wiederholten, mindestens halbstündigen Sterilisierung im strömenden Wasserdampf widerstehen und infolge langsamen Auswachsens der Beobachtung trotz 1—3-tägiger Bebrütung zur Ueberprüfung der Sterilität entgehen können. Trotzdem die von mir benutzten Rinder Serumröhrchen sich nach 3-tägigem Aufenthalt im Brut-schrank bei 37° C anscheinend als keimfrei erwiesen hatten und ich nur in 2 Fällen eine derartige Verunreinigung habe feststellen können, er-

scheint mir die Erklärung meiner obigen Befunde im Sinne v. Hiblers als naheliegend und berechtigt. Jedenfalls lehrt die kleine Beobachtung, und darum habe ich sie hier angeführt, wie große Vorsicht bei der Beurteilung von anscheinend gelungener Umzüchtung geboten ist.

Der Vollständigkeit halber sei schließlich noch erwähnt, daß von den genannten 8 Stämmen vor der Inangriffnahme der eigentlichen Versuche anaërobe Zuckeragarplatten in verschiedenen Verdünnungen angelegt und nach sorgfältiger Prüfung durch Abimpfen von Einzelkolonien Kulturen gewonnen wurden, deren einwandfreie Beschaffenheit als gesichert gelten konnte.

Da es zu weit führen würde, alle Versuchsergebnisse ungekürzt wiederzugeben, muß ich mich damit begnügen, einzelne Stämme als Beispiele herauszugreifen. Zu diesem Vorgehen glaube ich um so mehr berechtigt zu sein, als eine weitgehende Uebereinstimmung in dem Verhalten einzelner Kulturen unverkennbar war. Als solche Beispiele habe ich daher die Stämme Linders, Fahr, Fraenkel II und III ausgewählt und zunächst die Ergebnisse der Fortzüchtung auf Traubenzuckeragar in Tabelle I zusammengestellt. Die Prüfung der Beweglichkeit erfolgte im hängenden Tropfen, gelegentlich auch im Dunkelfeld, der Nachweis der Sporen vorzugsweise nach dem Möllerschen Färbeverfahren oder durch die einfache Gramsche Färbung, der Nachweis der Geißeln nach der Zettnowschen Versilberungsmethode.

Tabelle I.  
Fortzüchtung auf Traubenzuckeragar.

Ueberimpfung	Bacillus Linders	Bacillus Fahr	Bacillus Fraenkel II	Bacillus Fraenkel III
1.	bew.,* viele Sporen	bew., keine Sporen	unbew., keine Sporen	unbew., keine Sporen
2.	" " "	unbew., " "	" " "	" " "
3.	" " "	bew., " "	" " "	" " "
4.	" " "	unbew., " "	" " "	" " "
5.	" " "	" " "	" " "	" " "
6.	" wenig "	" " "	" " "	" " "
7.	" " "	bew., " "	" " "	" " "
8.	" " "	unbew., " "	" " "	" " "
9.	" keine "	" " "	" " "	" " "
10.	" " "	" " "	" " "	" " "
11.	" " "	" " "	" " "	" " "
12.	" " "	" " "	" " "	" " "

\* bew. = beweglich, unbew. = unbeweglich.

Wie es nach den Angaben Conradis und Bielings zu erwarten war und aus der Tabelle I zu entnehmen ist, haben die Fraenkel-Stämme II und III (und ebenso auch die Kultur I) bei der fortgesetzten Züchtung auf Traubenzuckeragar keine Aenderung ihres morphologischen Verhaltens erkennen lassen. Beweglichkeit, Geißeln und Sporen haben sich ebensowenig nach 12 Ueberimpfungen wie am Anfang des Versuches nachweisen lassen und sind auch nach zahlreichen weiteren, hier nicht aufgeführten Umzüchtungen nicht aufgetreten. Von den beweglichen Sporenbildnern hat der Stamm Linders seine Beweglichkeit und Geißeln dauernd unverändert beibehalten. Hingegen trat in dem Sporenbildungsvermögen eine unverkennbare Veränderung insofern zutage, als

die färberisch nachweisbaren Sporen an Zahl allmählich zurückgingen, um schließlich ganz zu verschwinden. Ein ganz ähnliches Verhalten zeigten auch die nicht in der Tabelle aufgeführten Stämme malignes Oedem und Mehrmann. Beide behielten ihre Beweglichkeit und Geißeln unverändert bei. Die Sporenbildung ließ sich bei der erstgenannten Kultur von der 12. Ueberimpfung ab nicht mehr nachweisen, während sie dem Stamme Mehrmann dauernd, wenn auch mit starken quantitativen Schwankungen, erhalten blieb. Der Bacillus Fahr hingegen führte von vornherein auf Zuckeragar keine Sporen und büßte seine träge, oft nur schwer festzustellende Beweglichkeit bald völlig ein. Ein ähnliches Verhalten zeigte die Kultur Malo a, die ebenfalls bald scheinbar unbeweglich wurde und die anfangs noch gelegentlich anzutreffenden Sporen von der 7. Ueberimpfung ab regelmäßig vermissen ließ. Bei beiden letztgenannten Stämmen ließen sich aber auch nach Abschluß des Versuches die Geißeln einwandfrei darstellen, eine Bestätigung der Forderung Fraenkels, sich bei der Prüfung der Beweglichkeit nicht auf die Untersuchung im hängenden Tropfen oder im Dunkel-feld zu beschränken.

Ueber das Verhalten der untersuchten Kulturen bei Fortzüchtung in erstarrtem Rinderserum gibt die folgende Tabelle II Aufschluß.

Tabelle II.  
Fortzüchtung in erstarrtem Rinderserum.

Impfung	Bacillus Linders			Bacillus Fahr			Bacillus Fraenkel II			Bacillus Fraenkel III		
	bew. *	viel	Sporen	unbew.,	keine	Sporen	unbew.,	keine	Sporen	unbew.,	keine	Sporen
1.	bew. *	sehr viel	Sporen	unbew.,	keine	Sporen	unbew.,	keine	Sporen	unbew.,	keine	Sporen
2.	"	viel	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
3.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
4.	"	sehr viel	"	"	sehr wenig	"	"	wenig	"	"	"	"
5.	"	"	"	"	wenig	"	"	keine	"	"	"	"
6.	"	viel	"	"	viel	"	"	wenig	"	"	"	"
7.	"	"	"	"	"	"	"	viel	"	"	"	"
8.	"	wenig	"	"	"	"	"	wenig	"	"	"	"
9.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
10.	"	viel	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
11.	"	"	"	"	wenig	"	"	sehr wenig	"	"	"	"
12.	"	wenig	"	"	viel	"	"	wenig	"	"	"	"

bew. = beweglich, unbew. = unbeweglich.

Wie aus der Tabelle II zu entnehmen ist, war das Wachstum der beweglichen Kultur Linders im Rinderserum charakterisiert durch die regelmäßige Bildung von Sporen, die zwar quantitative Schwankungen zeigte, aber niemals gänzlich vermißt wurde. Die Zeit, die von jeder einzelnen Impfung bis zum Auftreten der ersten Spuren von Verflüssigung verstrich, betrug fast immer 3, seltener 4 Tage. Das gleiche Verhalten wiesen auch die Stämme malignes Oedem und Mehrmann auf, und auch der anfangs sporenfreie Bacillus Fahr war schon nach wenigen Ueberimpfungen durch das konstante Auftreten mehr oder minder zahlreicher Sporen gekennzeichnet. Nur die Beweglichkeit im hängenden Tropfen, die ja auch bei der Zuckeragarkultur Fahr schwer und immer nur an wenigen Exemplaren sich hatte feststellen lassen, wurde in den

Serumkulturen vermißt, trotzdem mittels der Zettnowschen Versilberungsmethode Geißeln einwandfrei nachweisbar waren.

Auch bei der Fraenkel-Kultur II, und ebenso bei dem in der Tabelle II nicht aufgeführten Stamm I, wurden schon nach wenigen Ueberimpfungen regelmäßig Sporen gefunden, während sie bei der Fraenkel-Kultur III dauernd vermißt wurden. Alle 3 Fraenkel-Stämme zeigten aber insofern eine vollkommene Uebereinstimmung, als sie absolut unbeweglich blieben und selbst nach 12 Ueberimpfungen keine Geißeln erkennen ließen. Die Zeit bis zum ersten Auftreten der Verflüssigung schwankte immer zwischen 4 und 5 Tagen.

Ein ähnliches, wenn auch weniger ausgesprochenes Verhalten konnte bei der Züchtung in einem anderen eiweißreichen Nährsubstrat, in der Tarozzi-Bouillon, beobachtet werden. Die Ergebnisse dieses Versuches habe ich kurz in Tabelle III zusammengestellt:

Tabelle III.  
Fortzüchtung in Tarozzi-Bouillon.

Ueberimpfung	Bacillus Linders	Bacillus Fahr	Bacillus Fraenkel II	Bacillus Fraenkel III
1.	bew., *wenig Sporen	unbew., keine Sporen	unbew., keine Sporen	unbew., keine Sporen
2.	" " "	" wenig "	" " "	" " "
3.	" viel "	" " "	" " "	" " "
4.	" " "	" keine "	" " "	" " "
5.	" " "	" wenig "	" " "	" " "
6.	" " "	" keine "	" wenig "	" " "
7.	" " "	" " "	" keine "	" " "
8.	" wenig "	" viel "	" " "	" " "
9.	" viel "	" keine "	" wenig "	" " "
10.	" wenig "	" viel "	" keine "	" " "
11.	" viel "	" keine "	" " "	" " "
12.	" wenig "	" wenig "	" " "	" " "

\* bew. = beweglich, unbew. = unbeweglich.

Auch in der Tarozzi-Bouillon waren die Angehörigen der malignen Oedemgruppe, als deren Vertreter die Stämme Linders und Fahr aufgeführt sind, durch die mehr oder weniger reichliche Sporenbildung ausgezeichnet. Geißeln ließen sich bei allen 5 Kulturen nachweisen, auch bei dem Bacillus Fahr, der bei der Untersuchung im hängenden Tropfen scheinbar unbeweglich war. Die Fraenkel-Stämme I und II waren auch in der Tarozzi-Bouillon gelegentlich von Sporen begleitet, während Fraenkel III immer asporogen war. Alle 3 Fraenkel-Stämme blieben auch hier dauernd unbeweglich und geißellos.

Ein Vergleich der bisherigen Ergebnisse mit den Angaben von Conradi und Bieling ergibt, daß in der Tat die Bazillen aus der Gruppe des malignen Oedems ihre auf eiweißreichen Nährsubstraten sehr ausgeprägte Fähigkeit, Sporen zu bilden, bei fortgesetzter Züchtung auf Traubenzuckeragar fast immer mehr oder weniger schnell einbüßen. Die Beweglichkeit dagegen bleibt einem großen Teil dieser Bakterien auch nach sehr zahlreichen Ueberimpfungen unvermindert erhalten. In den Fällen, wo sie sich bei Untersuchung im hängenden Tropfen oder im



Dunkelfeld nicht mehr nachweisen läßt, ist die Unbeweglichkeit jedenfalls nicht auf einen Verlust der Geißeln zu beziehen, sondern wird durch andere, uns unbekannte Störungen bedingt. Eine Aenderung prinzipiell wichtiger Eigenschaften dieser Mikroorganismen hat sich also nicht feststellen lassen. Ebenso wenig haben sich die unbeweglichen Fraenkel-Bazillen durch Fortimpfung auf eiweißreichen Nährmedien in andersgeartete Bakterien überführen lassen. Sie bleiben vielmehr dauernd unbeweglich und geißellos. Nur die Fähigkeit, Sporen zu bilden, trat bei 2 von 3 geprüften Stämmen mit der Zeit immer deutlicher zutage.

Meine Ergebnisse bestätigen also durchaus die Untersuchungen von Fraenkel (2), der im Verein mit Plaut die Conradi-Bielingschen Angaben widerlegen und nachweisen konnte, daß der Fraenkelsche Gasbacillus unbegeißelt ist und, ganz unabhängig von der Art seiner Züchtung, auch geißellos bleibt. Die von Fraenkel nicht in Abrede gestellte und auch durch meine Versuche wieder erhärtete Fähigkeit der Gasbazillen, Sporen zu bilden, ist schon durch v. Hibler (11) nachgewiesen und ausführlich studiert worden. Nach v. Hibliers Erfahrungen begünstigen die Gegenwart von Pepton oder Eiweißkörpern sowie höhere Alkaligrade der Nährsubstrate die Bildung von Sporen in Kulturen des Gasbacillus. Die fördernde Wirkung eiweißreicher Nährmedien auf die Sporenproduktion, die auch Passini (10) und jüngst Selter (18) beobachten konnten, wird durch meine obigen Versuche bestätigt. Der begünstigende Einfluß höherer Alkalität ist neuerdings durch Olsen (19) und Fraenkel (2) ebenfalls anerkannt worden, und auch meine eigenen, in Tabelle IV kurz zusammengestellten Versuche führten zu gleichen Ergebnissen.

Tabelle IV.

Einfluß der Alkalität auf die Sporenbildung beim Fraenkelschen Gasbacillus.

Sodagehalt	Tag	Bacillus Fraenkel I	Bacillus Fraenkel II
0,1 Proz.	1.	wenig Sporen	wenig Sporen
	3.	" "	" "
0,2 "	1.	" "	keine "
	3.	viel "	viel "
0,3 "	1.	wenig "	keine "
	3.	viel "	viel "
0,4 "	1.	keine "	keine "
	3.	wenig "	wenig "
0,5 "	1.	keine "	keine "
	3.	" "	" "
0,6 "	1.	" "	" "
	3.	" "	" "

Ich verwandte für diese Untersuchungen gewöhnliche Nähragarproben ohne weitere Zutaten, die einen von 0,1 bis 0,6 Proz. steigenden Sodagehalt aufwiesen. Wie aus der Tabelle IV zu entnehmen ist, trat die Sporenbildung teilweise schon am 1. Tage nach der Impfung auf

und wurde bei einem mittleren Sodagehalt von 0,1—0,3 Proz. am 3. Tage in keinem Falle vermißt. Das Optimum der Alkalität scheint unter Berücksichtigung der quantitativen Wachstumsverhältnisse zwischen 0,2 und 0,3 Proz. Soda zu liegen. Jenseits dieser Grenze nimmt die Sporenbildung allmählich ab und hört bei einem Sodagehalt von 0,5 Proz. (nach anderen Versuchen bei 0,6 Proz.), wie überhaupt jede Bakterienentwicklung, völlig auf. Die Kulturen Fraenkel I und II unterschieden sich dabei nur insofern voneinander, als sich die Sporen beim Stamm I schon nach 24 Stunden, beim Stamm II dagegen erst nach 3 Tagen nachweisen ließen. Die Kultur Fraenkel III nahm auch hier wieder eine Sonderstellung ein, indem bei ihr sich die Sporenbildung nur bei 0,3 Proz. Soda, nicht aber bei 0,2 Proz. feststellen ließ. Das sind zwar nur geringfügige Differenzen quantitativer Art, auf die ich weiter unten aber werde zurückgreifen müssen.

Alle diese Beobachtungen führen demnach zu dem Schluß, daß nur die Fähigkeit der Sporenbildung bei den in Frage kommenden Anaërobiern wandelbar ist und sich willkürlich durch die Wahl des Nährsubstrates bzw. der Alkalität beeinflussen läßt. Diese Tatsache allein, die uns ja auch von anderen Bakterien, z. B. dem Milzbrandbacillus, her bekannt ist, berechtigt natürlich noch nicht, eine Umwandlung der betreffenden Bakterienart anzunehmen. Auch der schon besprochene, gelegentlich beobachtete Verlust der Beweglichkeit im hängenden Tropfen, einer auch bei anderen Bakterien oft recht labilen Eigenschaft, läßt sich nicht in diesem Sinne deuten, da er nicht durch ein Verschwinden der Geißeln bedingt wird. Vielmehr sprechen die sonst auf allen Nährböden festgestellte Unveränderlichkeit sowie vor allem der Umstand, daß die Geißeln der Fraenkel-Gruppe konstant fehlen, während sie den Angehörigen der Oedemgruppe unter den verschiedensten Bedingungen dauernd erhalten bleiben, dafür, daß zunächst keine Veranlassung vorliegt, von der alten Kochschen Lehre über die Konstanz der Arten abzugehen.

In dieser Ansicht werde ich noch bestärkt durch die auch nach zahlreichen Ueberimpfungen auf eiweißreichen Nährmedien unverändert gebliebene Tierpathogenität meiner Fraenkel-Stämme und durch das serologische Verhalten der Anaërobier. Der Einwand Aschoffs, daß sich der Fraenkelsche und der Oedembacillus im Tierversuch oft nicht mit Sicherheit differenzieren lassen, da auch beim Oedembacillus gelegentlich die Gasbildung recht ausgeprägt sein und umgekehrt beim Gasbacillus die Gasbildung gegenüber dem Infiltrat stark zurücktreten kann, ist erst jüngst von Fraenkel (2) eingehend diskutiert und zurückgewiesen worden. Meine eigenen Erfahrungen über diesen Punkt sind zwar zu beschränkt, um Anspruch auf maßgebende Bedeutung erheben zu können, dürfen aber entschieden als Stütze der Fraenkelschen Anschauung betrachtet werden. Bei den Tieren, die nach Impfung mit den von mir isolierten, zur Oedemgruppe gehörigen Stämmen Linders und Mehrmann verendet waren, stand das sanguinolente Oedem so sehr im Vordergrund der Erscheinungen, daß auch die meist nur geringfügige Durchsetzung desselben mit feinen Gasblasen nicht den Verdacht einer Fraenkel-Infektion hätte aufkommen lassen. Andererseits habe ich zwar gelegentlich bei Meerschweinchen nach der intramuskulären Impfung mit Fraenkelschen Gasbazillen ein stärkeres Hervortreten des Oedems, besonders in den Extremitätenbeugen, beob-

achten können, jedoch ließen sich daneben immer auch die wichtigsten Symptome der Meerschweinchengasgangrän, wie Gasbildung, Gewebnekrose und Exsudation einer geruchlosen, fleischwasserartigen Flüssigkeit feststellen, so daß bei Berücksichtigung aller Erscheinungen, zumal unter Hinzuziehung des mikroskopischen Befundes, die Diagnose doch immer nur im Sinne der Gasbazilleninfektion lauten durfte. Auch das refraktäre Verhalten der Kaninchen gegen Gasbazillen, das ich bei meinen Versuchen durchaus bestätigen konnte, läßt sich mit Vorteil für die Identifizierung verwerten. Von dem eben erwähnten serologischen Verhalten der anaëroben Stämme sei an dieser Stelle nur gesagt, daß nach meinen Erfahrungen ein Kaninchenantiserum, das von einem auf Zuckeragar fortgezüchteten Anaëroben hergestellt worden ist, den gleichen, auf eiweißreichen Nährsubstraten fortgeimpften Stamm ebenso gut agglutiniert wie die Zuckeragarrasse und umgekehrt. Ebensowenig konnte Fürth (14) einen Unterschied in dieser Hinsicht beobachten, vielmehr stellte er fest, daß das Antiserum zu einem der beiden Typen, die sich nach seiner Ansicht beim Gasbrandbacillus unterscheiden ließen, auch immer den anderen Typus agglutinierte.

### III.

Nachdem ich durch die im vorstehenden geschilderten Untersuchungen die Ueberzeugung gewonnen hatte, daß der Fraenkelsche Gasbacillus als wohlcharakterisierte, konstante Art von der Bazillengruppe des malignen Oedems getrennt werden müsse, legte ich mir die Frage vor, welche Stellung die von mir gezüchteten Bazillen Linders und Mehrmann zu den übrigen Anaërobiern einnehmen. Vergleichende Untersuchungen über das Wachstum auf Nährsubstraten, die verschiedene Kohlehydrate (Adonit, Arabinose, Dextrin, Dextrose, Dulcit, Galaktose, Inulin, Lävulose, Laktose, Mannit, Maltose, Raffinose, Saccharose) enthielten, zeigten mir, daß sich das Verhalten aller 8 Stämme gegenüber den geprüften Zuckerarten immer in gleicher Weise äußerte, mithin für den gedachten Zweck nicht verwerten ließ. Aussichtsvoller schien mir die Prüfung der in Frage kommenden Kulturen mittels der serologischen Untersuchungsmethoden, die zur Bestimmung der verwandtschaftlichen Beziehungen bei anderen Bakterienarten so oft mit Erfolg in Anwendung gebracht worden sind. Zwar liegt schon eine Reihe von Untersuchungen über diese Frage vor, doch haben sie sich fast alle auf die Prüfung mittels des Agglutinationsverfahrens beschränkt, und ihre Ergebnisse sind zum Teil recht widersprechend, zum Teil scheinbar wenig bekannt geworden.

Vergleichende Agglutinationsversuche hat zuerst, soviel ich ermitteln konnte, Passini (10) ausgeführt. Er stellte fest, daß ein mit asporogenen Gasphlegmonebazillen erzeugtes Immunserum sowohl die asporogenen Stäbchen als auch die auf eiweißreichen Nährmedien gewachsenen Sporenbildner in gleicher Weise agglutinierte, während *Putrificus*-Kulturen unbeeinflusst blieben. Ein solches Antiserum agglutinierte nicht nur den Eigenstamm, sondern auch andere Gasphlegmonekulturen, wenn auch in nicht so starkem Maße. Hingegen beeinflusste ein von der sporogenen Form gewonnenes Serum den Eigenstamm und den *Putrificus*, nicht aber die sporenfreien Stäbchen. Ein *Putrificus*-Antiserum schließlich agglutinierte die homologen Bazillen stärker als andere *Putrificus*-Stämme, ließ aber auch

Serumkulturen des malignen Oedems nicht unbeeinflusst. Passini folgert aus seinen Versuchen, daß die anaëroben Buttersäurebazillen, entsprechend der Ansicht von Graßberger und Schattenfroh, einer Bakteriengruppe angehören. Ebenso konnte Bachmann (20) bei der vergleichenden Prüfung von 5 Kulturen des malignen Oedems eine Mitagglutination einzelner Stämme durch heterologe Antisera unter bestimmten Bedingungen feststellen. Er hält es aber für unmöglich, auf Grund dieser Befunde die verschiedenen Stämme für identisch zu erklären, und will deshalb die Bezeichnung *Bacillus* des malignen Oedems als einen Sammelbegriff aufgefaßt wissen. Die Angaben Passinis sind in jüngster Zeit insofern von Fürth (14) bestätigt worden, als auch er feststellen konnte, daß das Antiserum zu jedem der beiden Typen, die er beim Gasbrandbacillus unterscheiden und ineinander überführen konnte, auch immer den anderen Typus mitagglutinierte. Demgegenüber geben Conradi und Bieling (8) an, daß die Antisera der Bakterien des Formenkreises A alle Angehörigen des Kreises A gleichmäßig, den Kreis B dagegen gar nicht oder nur wenig beeinflussen. Umgekehrt agglutinieren die Immunsera der beweglichen Sporenträger alle Vertreter des B-Kreises bis zum Endtiter, während die A-Formen gleichmäßig, aber nur in geringer Höhe, in Mitleidenschaft gezogen werden. Das Agglutinationsverfahren ermöglicht also nur die Trennung der beiden Formenkreise, läßt aber innerhalb derselben im Stich. Die Produktion von Agglutininen erfolgt nach den Erfahrungen von Conradi und Bieling bei dem B-Kreise leichter und stärker als bei dem A-Kreise. Schließlich berichtet in neuester Zeit Bonhoff (21) über Versuche mit einem Fraenkel- und einem Oedemserum, die sowohl den homologen wie den heterologen Stamm bis zur Titergrenze agglutinierten.

Diesen Beobachtungen, welche eine mehr oder minder weitgehende Beeinflussung der in Frage kommenden Anaërobier durch heterologe Antisera dargetan haben, stehen andere Untersuchungen gegenüber, die zu wesentlich anderen Ergebnissen gelangt sind. Werner (13) stellte bei Agglutinationsversuchen mit Gasphlegmonebazillen verschiedener Herkunft fest, daß die einzelnen Kulturen durch die heterologen Antisera auch in stärkeren Konzentrationen nicht im mindesten beeinflusst wurden. Und schließlich sind gleichartige Untersuchungen, die von Fürth (14) mit verschiedenen Rauschbrand- und Gasbrandstämmen ausgeführt worden sind, zu dem gleichen Ergebnis gelangt. Der von Fürth isolierte *Bacillus* K. 641 wurde allerdings auch von einem Rauschbrandserum agglutiniert, nicht aber von einem mit dem Conradi-Bielingschen Stäbchen erzeugten Antiserum. Ebenso vermochte das Immunserum K. 641 außer dem homologen Stamm auch noch 2 Rauschbrandkulturen (von 3) zu beeinflussen, was für die Rauschbrandnatur des *Bacillus* K. 641 sprechen würde. Hingegen blieb das gleiche Serum auf einen dritten Rauschbrandstamm, ferner auf einen Fraenkel-schen Gasbacillus sowie auf die von Aschoff und Conradi-Bieling isolierten Bakterien ohne jede Wirkung. Ebensowenig beeinflusste das Rauschbrandserum diese 4 Kulturen, und das Immunserum des Conradi-Bielingschen *Bacillus* schließlich vermochte nur den Eigenstamm zu agglutinieren. Die Untersuchungen von Werner und Fürth lassen also jede agglutinatorisch nachweisbare Verwandtschaft der einzelnen Anaërobier vermissen, während die im vorigen Absatz besprochenen Arbeiten eine mehr oder weniger ausgesprochene Mitagglutination erkennen ließen, die gelegentlich so weit gehen konnte, daß die Identifizierung der betreffenden Kulturen in Frage kam.

Die für meine Versuche notwendigen Antisera gewann ich durch intravenöse Vorbehandlung von Kaninchen mit großen Mengen teils abgetöteter, teils lebender Bazillen. Bei einem großen Teil der Tiere wurde diese Art der Impfung mit der intramuskulären kombiniert. Als Impfstoff wurden in den meisten Fällen die Abschwemmungen von Zuckeragarkulturen und Tarozzi-Bouillonkulturen — letztere vornehmlich für die intramuskuläre Injektion — gleichzeitig benutzt; bei einigen Tieren kam aber auch nur die Abschwemmung von Agarkulturen in Anwendung, bei anderen wieder nur Tarozzi-Bouillon. Der Agglutinationstiter des Serums derartig behandelter Kaninchen erreichte meist schon nach 4—6 Impfungen im Durchschnitt eine Höhe von 1:1600 bis 1:3200.

Die Ausführung der Agglutinationsversuche stößt bei den Anaërobiern insofern oft auf Schwierigkeiten, als manche dieser Bakterien die Neigung zeigen, auch in Kochsalzlösung Häufchen zu bilden, wodurch die einwandfreie Bestimmung des Endtiters nicht selten erschwert, wenn nicht unmöglich wird. Plaut (22) hat dieses Hindernis durch Anwendung seiner Reibemethode zu umgehen gewußt. Bei meinen Untersuchungen kam mir das Zentrifugierverfahren sehr zustatten, das, ursprünglich für die Beschleunigung der Typhusagglutination von mir (23) empfohlen, sich in der Folge auch bei einer Reihe anderer, besonders schwer agglutinierbarer Bakterien (Meningokokken, Rotzbazillen) vielfach bewährt hat. Das Prinzip dieser Methode beruht, wie hier noch einmal kurz erwähnt sei, auf der Möglichkeit, die zweite Phase der Agglutination, den Vorgang der Häufchenbildung, auf mechanischem Wege durch Ausschleudern zu beschleunigen. Werden die in der üblichen Weise mit Bakterien und Serum beschickten Röhrchen, die unten abgerundet sein müssen, etwa 5—10 Minuten lang, je nach der Tourenzahl der Zentrifuge, zentrifugiert, so gewahrt man bei Betrachtung von unten in der Kochsalzkontrolle sowie in den negativen Serumproben einen scharf umschriebenen Bodensatz, der sich nach mehrmaligem Schütteln ohne weiteres verteilen läßt. In den positiven Proben hingegen haben die zu Boden geschleuderten, agglutinierten Bakterien ein mehr oder weniger umfangreiches Sediment gebildet, das besonders bei stark positiver Reaktion oft von zahlreichen punktförmigen Präzipitaten umgeben ist. Durch mehrmaliges Schütteln läßt sich der Bodensatz nicht vollkommen verteilen, vielmehr bleiben auch dann noch größere oder kleinere Häufchen in der Flüssigkeit deutlich erkennbar. Auch bei den Grenzwerten sind derartige Häufchen dem geübten Auge noch ohne weiteres wahrnehmbar, obwohl der Bodensatz in solchen Fällen sich von dem des Kontrollröhrchens oft kaum unterscheiden läßt. Ganz ähnlich liegen nun die Verhältnisse auch bei der Agglutination der Anaëroben. Als Beispiel für das eben Gesagte diene die in Tabelle V wiedergegebene Austitrierung des Immunserums Fraenkel III nach dem allgemein üblichen Verfahren (2 Stunden bei 37°) einerseits und nach der Zentrifugiermethode andererseits. Als Bakterienemulsion diene, wie auch in allen weiteren Versuchen, die Aufschwemmung von Zuckeragarkulturen.

Wie aus Tabelle V zu entnehmen ist, hat das Antiserum Fraenkel III nach 2-stündiger Bebrütung bei 37° C den Eigenstamm noch bis zur Verdünnung 1:400 schwach (±) und nach 24 Stunden bis 1:800 beeinflußt. Die weiteren Verdünnungen sowie die Kontrollen sind in der Zusammenstellung als negativ bezeichnet worden, auch sie ließen

Tabelle V.

Beschleunigung der Agglutination durch Zentrifugieren (7 Minuten lang) bei Immuns serum Fraenkel III.

Serum- verdünnung	Nach 2 Std. bei 37°	Nach 24 Std. bei Zimmer- temperatur	Zentrifugiert 7 Minuten lang			
			Bodensatz vor dem Schütteln		Häufchen nach dem Schütteln	
1:50	++	+++	Durchm.	9 mm	sehr groß = stark	pos.
1:100	+	++	"	9 "	" " = "	"
1:200	+	+	"	8 "	" " = "	"
1:400	±	+	"	8 "	" " = "	"
1:800	—	±	"	8 "	" " = "	"
1:1600	—	—	"	8 "	" " = "	"
1:3200	—	—	"	7 "	groß = "	"
1:6400	—	—	"	5—6 "	sehr klein = schwach	"
1:12800	—	—	"	4 "	" " = negativ	"
Normalserum 1:50	—	—	"	4 "	" " = "	"
Kochsalzlösung	—	—	"	4 "	" " = "	"

aber feinste Flöckchen erkennen, deren Größenunterschied gegenüber der schwach positiven Probe nur unsicher abgeschätzt werden konnte. Hingegen ließ sich durch das Zentrifugierverfahren die Verdünnung 1:6400 als Endtiter ermitteln. In den zentrifugierten positiven Röhrchen war ein Bodensatz entstanden, dessen Umfang den der Kontrollgläschen ganz erheblich übertraf, und auch die nach dem Schütteln zurückbleibenden Häufchen ließen sich von den sehr feinen Flocken der Kontrollen und der negativen Proben ohne weiteres differenzieren. Der Grenzwert (1:6400) konnte hier nur an der Ausdehnung des Sediments festgestellt werden, während die Häufchen sich von denen der Kontrollen nicht mit Sicherheit unterschieden. Das Zentrifugierverfahren ermöglicht also nicht nur die Austitrierung eines Antiserums in wenigen Minuten, sondern hat auch noch den weiteren Vorteil, daß es bei spontan agglutinierenden Bakterien einwandfreiere und vor allem höhere Endtiterzahlen ergibt, als sie nach der üblichen 2-stündigen Bebrütung bei 37° C erhalten werden. Nur mittels der Ausschleudermethode läßt sich der Nachweis führen, daß sich mit den Fraenkelschen Gasbazillen ebenso hochwertige Agglutinationssera erzeugen lassen, wie mit den Bakterien der Oedemgruppe. Bei Mikroorganismen, die keine Neigung zu Spontanagglutination haben, stimmen dagegen die mittels des Zentrifugierens und die nach 2-stündiger Beobachtung gewonnenen Ergebnisse im wesentlichen überein.

Mittels des Zentrifugierverfahrens, aber immer unter gleichzeitiger Kontrolle durch 2-stündige Bebrütung bei 37° C, habe ich die Kaninchenimmuns sera der in Frage kommenden 8 Anaërobier gegen die homologen und heterologen Stämme ausgewertet und die ermittelten Endtiter in Tabelle VI zusammengestellt.

Wie aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, bestätigen meine Untersuchungen die oben erwähnten Angaben von Werner und Fürth vollkommen. Auch mir ist es nicht gelungen, nennenswerte verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den einzelnen Stämmen, geschweige denn eine Identifizierung, mittels der Agglutination nachzuweisen. Die schwache Beeinflussung der Kultur malignes Oedem durch die Sera

Tabelle VI.  
Ergebnisse der Agglutinationsprüfung.

Stamm	Immunserum							
	malignes Oedem	Linders	Mehr-mann	Fahr	Malo a	Fraen- kel I	Fraen- kel II	Fraen- kel III
Malignes Oedem	+ 1:1600	—	—	—	—	—	± 1:50	± 1:50
Linders	—	+ 1:1600	—	—	—	—	—	—
Mehr-mann	—	—	+ 1:3200	—	—	—	—	—
Fahr	—	—	—	+ 1:3200	—	—	—	—
Malo a	—	—	—	—	+ 1:1600	—	—	—
Fraenkel I	—	—	—	—	—	+ 1:6400	—	—
Fraenkel II	—	—	—	—	—	—	± 1:1600	—
Fraenkel III	—	—	—	—	—	—	—	± 1:6400

Fraenkel II und III in der Verdünnung 1:50 erscheint so geringfügig angesichts der Endtiter beider Sera, daß sie, zumal auch im Hinblick auf die übrigen Resultate, mehr als unerklärlicher Nebebefund aufzufassen ist und jedenfalls an dem Endergebnis nichts zu ändern vermag. Die Versuche zeigen eine so weitgehende Art-spezifität der untersuchten 8 Kulturen, daß die Aufstellung von bestimmten Bakteriengruppen auf Grund der Agglutinationsreaktion unmöglich ist und daß vielmehr die einzelnen Stämme als selbständige Bakterienarten aufzufassen wären.

In völliger Uebereinstimmung mit diesen Befunden stehen die Ergebnisse der Präzipitationsprüfung (Tabelle VII). Die Präzipitations-

Tabelle VII.  
Ergebnisse der Präzipitationsprüfung.

Filtrat	Immunserum								Normal-serum
	malignes Oedem	Lin-ders	Mehr-mann	Fahr	Malo a	Fraen- kel I	Fraen- kel II	Fraen- kel III	
Malignes Oedem	++	—	—	—	—	—	—	—	—
Linders	—	++	—	—	—	—	—	—	—
Mehr-mann	—	—	++	—	—	—	—	—	—
Fahr	—	—	—	++	—	—	—	—	—
Malo a	—	—	—	—	+	—	—	—	—
Fraenkel I	—	—	—	—	—	++	—	—	—
Fraenkel II	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Fraenkel III	—	—	—	—	—	—	—	++	—

reaktion hat für die Untersuchung der in Frage kommenden Anaerobier eine ausgedehntere Verwendung bisher überhaupt noch nicht gefunden. Conradi und Bieling (8) geben an, daß ein Kaninchenserum ihres Bac. sarcemphysematodes hominis die Aufschwemmung eines künstlich infizierten, gasbrandigen Rindermuskels präzipitierte, die Muskelextrakte von anderen obligaten Anaerobiern dagegen nicht beeinflußte. Ferner erwähnt Bonhoff (21) kurz, daß er in einem Fraenkel-Antiserum spärliche Präzipitine nachweisen konnte, die nur auf das homologe Filtrat wirksam waren.

Als Präzipitinogen benutzte ich die Filtrate möglichst dichter Auf-



schwemmungen von Zuckeragarkulturen, die vor der Filtration 4—5 Tage bei 37° der Autolyse überlassen worden waren. Wurde 1 ccm dieses Filtrates mit 0,1 ccm des homologen Antiserums unterschichtet, so trat in der Regel gleich (++) , spätestens aber nach  $\frac{1}{4}$ -ständiger Bebrütung bei 37° C (+) eine deutliche Trübung an der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten auf. Die Filtrate jüngerer und älterer Tarozzi-Bouillonkulturen waren für die Präzipitationsversuche nicht geeignet.

Wie nach dem Ausfall der Agglutinationsprüfung gar nicht anders zu erwarten war, zeigten auch die Präzipitationsversuche, daß die verschiedenen Kulturfiltrate nur mit dem homologen Antiserum eine positive Reaktion ergaben, von den heterologen Seris aber gänzlich unbeeinflusst blieben. Auch die Präzipitation ließ also das Vorhandensein verwandtschaftlicher Beziehungen zwischen den untersuchten 8 Stämmen nicht erkennen, vielmehr erschien die Annahme einer weitgehenden Spezifität der einzelnen Kulturen auch hier gerechtfertigt.

Als drittes serologisches Untersuchungsverfahren habe ich die Komplementbindungsmethode in Anwendung gebracht, die bisher nur von Bonhoff (21) bei der vergleichenden Prüfung eines Fraenkel-Serums und eines Oedemserums mitverwertet worden ist. Die Reaktion erwies sich ihm dabei als nicht spezifisch, indem das Fraenkel-Serum auch mit Oedemantigen Komplementbindung bewirkte und umgekehrt; doch ließen sich nicht unbeträchtliche quantitative Unterschiede dabei feststellen. Für meine Versuche dienten mir als Antigen einmal 4—5-tägige lebende Tarozzi-Bouillonkulturen, andererseits Antiforminextrakte, die ich mir in Anlehnung an das Verfahren von Altmann und Schultz (24) hergestellt hatte. Die in 2-proz. Antiforminlösung aufgeschwemmten Zuckeragarkulturen wurden 2 Stunden im Wasserbade bei etwa 50° C gehalten und die Extrakte hierauf mit 10-proz. Schwefelsäure (zur Abstumpfung des Alkali) und 10-proz. Natriumsulfidlösung (zur Entfernung des Chlors) neutralisiert; als Indikatoren dienten Lackmuspapier und Jodkalium-Stärkepapier. Die klaren Lösungen wurden zur Konservierung mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzt. Beide Antigene lieferten im Komplementablenkungsversuche im wesentlichen die gleichen Resultate, nur in Einzelfällen vermochten die Tarozzi-Bouillonkulturen noch mit höheren Serumverdünnungen Komplement zu binden. Der Gang der Versuche gestaltete sich in der bekannten Weise derart, daß zunächst das Komplement und das Antigen austitriert wurden. Die Hälfte bzw. das Doppelte der wirksamen Dosen von Antigen und Komplement wurden hierauf mit fallenden Mengen des Antiserums gemischt und nach 1-stündiger Bebrütung bei 37° C Hammelblut und hämolytischer Ambozeptor hinzugefügt. Dieses Gemenge wurde zunächst 20 Minuten bei 37° C und dann bei Eisschranktemperatur gehalten, das Ergebnis nach 24 Stunden abgelesen. Da es zu weit führen würde, alle Versuchsprotokolle im einzelnen wiederzugeben, begnüge ich mich damit, die unter Berücksichtigung auch der geringen Hemmungsgrade gewonnenen Titerzahlen, die sich bei Benutzung der Antiforminextrakte als Antigen ergaben, in Tabelle VIII zusammenzustellen.

Wie ein Blick auf Tabelle VIII zeigt, hat die Komplementbindungsreaktion wesentlich andere Ergebnisse als die Agglutination und die Präzipitation gezeitigt. Letztere sprachen für eine absolute Spezifität der einzelnen Kulturen in serologischem Sinne, die feinere Komplement-

Tabelle VIII.  
Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion.

Antigen	Immunserum ergibt Komplementbindung bis zur Verdünnung:							
	malignes Oedem	Linders	Mehr- mann	Fahr	Malo a	Fraen- kel I	Fraen- kel II	Fraen- kel III
malignes Oedem	1:800	1:400	1:50	1:200	1:200	1:25	1:50	1:200
Linders	1:400	1:800	1:25	1:200	1:400	1:25	1:25	1:50
Mehrman	1:200	1:200	1:50	1:100	1:100	1:25	1:50	1:50
Fahr	1:100	1:100	1:25	1:800	1:100	1:25	1:25	1:25
Malo a	1:200	1:200	1:25	1:100	1:400	1:25	1:25	1:50
Fraenkel I	1:50	1:100	1:50	1:100	1:100	1:200	1:400	1:100
Fraenkel II	1:25	1:25	—	1:100	1:50	1:25	1:400	1:25
Fraenkel III	1:200	1:100	1:25	1:100	1:100	1:50	1:50	1:400

ablenkung ist hingegen imstande, über verwandtschaftliche Beziehungen Aufschluß zu geben, die sich auf andere Weise nicht hätten nachweisen lassen. Die meisten Sera banden das Komplement am stärksten mit dem homologen Extrakt. Daneben wurde die Mitbeeinflussung der heterologen Antigene, die durch die Annahme gemeinsamer Rezeptoren erklärt werden muß, bei keinem Serum völlig vermißt. Meist ließ sie sich nur bis zu Bruchteilen des Endtiters feststellen, in Einzelfällen aber auch bis zur Titergrenze, so daß ohne die Ergebnisse der Agglutination und Präzipitation eine Identifizierung der betreffenden Bakterien hätte in Frage kommen können. Eine ausgesprochene Gesetzmäßigkeit in diesem Verhalten konnte zwar nicht beobachtet werden, doch wiesen die Antisera der zur Oedemgruppe gehörigen Bakterien insofern eine größere Reaktionsbreite auf, als sie im allgemeinen noch in höheren Verdünnungen mit den heterologen Antigenen reagierten, als es die Fraenkel-Sera taten. Diese Wirkung äußerte sich aber nicht gleichmäßig gegenüber allen Antiforminextrakten, sondern trat bei den Oedemseris meist stärker gegenüber den heterologen Oedemantigenen und umgekehrt bei den Fraenkel-Seris oft stärker gegenüber den heterologen Fraenkel-Antigenen zutage. Wie nochmals betont sei, kamen aber Ausnahmen von dieser Durchschnittsregel sowohl nach der einen wie nach der anderen Richtung hin vor.

Betrachtet man die Ergebnisse im einzelnen, so zeigt sich, daß die 5 Oedemantisera von den heterologen Oedemextrakten die Antigene malignes Oedem und Linders am stärksten und das Antigen Fahr meist am schwächsten beeinflussten, während die Antigene Mehrmann und Malo a in dieser Hinsicht meist eine Mittelstellung einnahmen. Bei dem Antiserum Mehrmann traten diese Verhältnisse zwar wegen der geringen Titerhöhe weniger deutlich zutage, doch ließ sich bei Benutzung von Tarozzi-Bouillonkulturen als Antigen das gleiche Verhalten bei höheren Grenzwerten beobachten. Von den 3 Fraenkel-Extrakten wurde das Antigen Fraenkel II, abgesehen vom Antiserum Fahr, deutlich schwächer beeinflusst als die Antigene I und III, die sich ihrerseits wieder dem Extrakt Fahr näherten. Die 3 Fraenkel-Sera ließen durchgehends nur eine geringe Beeinflussung der Oedemantigene erkennen, ausgenommen Fraenkel-Serum III, das noch in der Verdünnung 1:200 mit dem Antigen malignes Oedem Komplement zu binden imstande war. Fraenkel-Serum I beeinflusste die Fraenkel-Antigene II und III nur schwach, während Serum II auch mit

dem Extrakt I bis zur Titergrenze reagierte; Serum III schließlich beeinflusste das Antigen II nur wenig und das Antigen I in mittlerer Stärke.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Komplementbindungsreaktion im ganzen ein recht wechselvolles Bild ergibt, das einerseits die Verschiedenheit der untersuchten 8 Kulturen ohne weiteres erkennen läßt, andererseits aber verwandtschaftliche Beziehungen aufdeckt, die sich mittels der Agglutination und Präzipitation nicht haben nachweisen lassen. Durch die Komplementablenkung lassen sich die Gruppen der Oedembazillen und Fraenkelbazillen insofern differenzieren, als im allgemeinen die Oedemsera die heterologen Antigene in höherem Maße beeinflussen, als das die Fraenkel-Sera vermögen. Ferner äußert sich diese Wirkung bei den Oedemseris gegenüber den heterologen Extrakten aus der Oedemgruppe oft, aber nicht immer, ausgesprochener als gegenüber den Fraenkel-Extrakten und umgekehrt bei den Fraenkel-Seris gegenüber den heterologen Fraenkel-Antigenen meist stärker als gegenüber den Oedemantigenen. Wenngleich von einem streng gesetzmäßigen Verhalten nicht gesprochen werden kann, lassen diese Unterschiede es doch bis zu einem gewissen Grade berechtigt erscheinen, die Gruppen der Oedembazillen und der Fraenkel-Bazillen zu trennen.

Die im Vorstehenden beschriebenen serologischen Untersuchungen haben also gezeigt, daß die Agglutination und Präzipitation für eine absolute Spezifität der untersuchten 8 Kulturen sprachen, während die Komplementbindungsreaktion zwar auch eine Trennung ermöglichte, außerdem aber mehr oder minder ausgesprochene verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den einzelnen Stämmen erkennen ließ. Dieser abweichende Befund darf nicht als absoluter Widerspruch aufgefaßt werden. Er beweist eben nur, daß die Komplementablenkung als die feinere Reaktion noch Zusammenhänge aufzudecken vermag, die sich aus der gemeinsamen Herkunft der in Frage kommenden Anaerobier leicht erklären. Diese verwandtschaftlichen Beziehungen, welche die Zugehörigkeit der dem Erdboden entstammenden pathogenen Anaerobier zu einer großen Bakteriengruppe beweisen, müssen indes weiter gefaßt werden, als z. B. bei den Typhus- und Paratyphusbakterien. Bei diesen deutet die meist nachweisbare Mitagglutination zweifellos auf eine nahe Verwandtschaft, bei den Anaerobiern dagegen spricht das Fehlen dieses Phänomens dafür, daß die Beziehungen zwischen den einzelnen Stämmen offenbar anderer, und zwar entfernterer Art sind.

Diese Feststellung ist in mehrfacher Hinsicht von Bedeutung. Einmal zeigt sie, daß für die bakteriologische Differentialdiagnose der hier besprochenen Anaerobier die serologischen Untersuchungsmethoden nicht geeignet sind, da sie zu einem positiven Ergebnis nur in den seltenen Fällen führen werden, wo die zur Herstellung des Antiserums benutzte Kultur mit dem zu bestimmenden Bacillus identisch ist. Ebenso wenig bieten uns die serologischen Verfahren die Möglichkeit, die Aufstellung bestimmter Gruppen mit Sicherheit durchzuführen. Nur die Komplementbindungsreaktion lieferte, wie oben auseinandergesetzt, gewisse Anhaltspunkte dafür, daß sich die Gruppe der Bazillen des malignen Oedems von der Gruppe der Fraenkel-Bazillen trennen läßt. Diese

Einteilung würde völlig der durch morphologische und tierpathogene Eigentümlichkeiten bedingten Gruppierung entsprechen, wie sie Fraenkel vorschlägt und auch für die klinische Beurteilung der Gasbrand-erkrankungen durchgeführt wissen will. Daß die Aetiologie des malignen Oedems nicht einheitlich ist, daß vielmehr der Name Bacillus des malignen Oedems einer Reihe verschiedenartiger Bakterien zukommt, ist bereits von verschiedenen Autoren bestätigt worden. Daß aber auch die Bezeichnung Fraenkelscher Gasbacillus als Sammelbegriff aufzufassen ist, geht bisher nur aus den oben zitierten Ausführungen Werners (13) hervor. Meine eigenen Untersuchungen bestätigen diese Ansicht vollkommen und zeigen, daß der Fraenkelsche Gasbacillus kein streng einheitliches Bakterium schlechthin ist, sondern, im serologischen Sinne wenigstens, als Bakteriengruppe aufgefaßt werden muß, deren Angehörige durch bestimmte morphologische, kulturelle und tierpathogene Eigenschaften charakterisiert sind. Zugunsten dieser Anschauung würde auch das oben erwähnte verschiedenartige Verhalten der Fraenkel-Stämme bei der Sporenbildung sprechen. Die Auffassung des Fraenkelschen Gasbacillus als einer Bakteriengruppe entspricht der Beurteilung, welche die Coli-Bakterien, die choleraähnlichen Vibrionen, der *Bac. faecalis alcaligenes* und andere in dieser Hinsicht gefunden haben. Auch hier wird allgemein von einer Coli-Gruppe usw. gesprochen. Besonders ausgesprochen ist die Analogie bei dem *Alcaligenes*, einer im allgemeinen wohlcharakterisierten Bakterienart, die aber, wie ich (25) zeigen konnte, auf Grund der Agglutinationsergebnisse ebenfalls als Bakteriengruppe aufgefaßt werden muß.

Die Feststellung, daß die Bazillen der malignen Oedem- und der Fraenkel-Gruppe keine Einheiten im serologischen Sinne darstellen, ist schließlich auch für die spezifische Therapie und Prophylaxe der in Frage kommenden anaëroben Wundinfektionen nicht ohne Belang. Rein theoretisch kann der Versuch, den Krankheitsprozeß durch Anwendung eines Heilserums zu beeinflussen, nur Aussicht auf Erfolg haben, wenn der Krankheitserreger mit der zur Herstellung des Immunserums benutzten Kultur identisch ist. Diese Voraussetzung wird aber wohl nur in seltenen Fällen zutreffen, und auch die Verwendung eines polyvalenten Serums wird nicht immer zum Ziele führen. Die Richtigkeit dieser Annahme wird durch Untersuchungen bewiesen, bei denen verschiedene Stämme für die Immunisierung und Impfung benutzt wurden. So gelangte Bachmann (20) bei der vergleichenden Prüfung von 5 verschiedenen Oedemstämmen zu dem Ergebnis, daß eine gegenseitige Immunisierung nicht stattfindet. Ferner gehören, angesichts des Vorschlages von Conrad und Bieling (8), die Gasbranderkrankungen mit Rauschbrandserum zu behandeln, hierher die Beobachtungen von Kitasato (26), Leclainche und Vallée (27), Foth (28), Graßberger und Schattenfroh (29) u. a., daß Rauschbrand und malignes Oedem sich durch die gegenseitige Immunisierung scharf trennen lassen, bzw. daß Rauschbrandserum Meerschweinchen nicht vor der tödlichen Infektion mit Oedembazillen schützt. Meine eigenen Versuche zeigten, daß mit Oedembazillen vorbehandelte Meerschweinchen einer nachfolgenden Impfung mit Fraenkel-Bazillen, die längere Zeit auf eiweißreichen Nährmedien fortgezüchtet worden waren, ausnahmslos erlagen. Diesen Beobachtungen stehen die Erfahrungen von Aschoff (5), seinen Mitarbeitern (6) und Klose (30) gegenüber, die ihre mit Gasödem-, bzw. Fraenkelschen Gasbazillen infizierten Tiere durch Einspritzung des zuge-

hörigen Antiserums am Leben erhalten konnten. Zu diesen Befunden ist zu bemerken, daß Klose für die Herstellung des Immunserums und für die Infektion, so weit das seinen Ausführungen zu entnehmen ist, immer denselben Fraenkel-Stamm „Prym“ benutzt hat, während ich bei den Aschoffschen Versuchen keine näheren Angaben über diesen Punkt gefunden habe. Jedenfalls würde es noch eingehender Untersuchungen über den Einfluß eines derartigen Immunserums auf die durch heterologe Gruppenangehörige verursachten Infektionen bedürfen, bevor die allgemeine Durchführung der prophylaktischen Impfung und Serumtherapie, deren Aussichten aus den genannten Gründen zum mindesten mit größter Vorsicht zu beurteilen sind, bei den anaëroben Wundinfektionen in Frage käme.

Die Ergebnisse der im Vorstehenden geschilderten Untersuchungen, die mit 5 zur Gruppe des malignen Oedems gehörigen Kulturen und 3 Fraenkel-Stämmen verschiedener Herkunft ausgeführt worden sind, lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1) Die Bazillen aus der Gruppe des malignen Oedems verlieren bei längerer Fortzucht auf Traubenzuckeragar fast immer ihre Fähigkeit, Sporen zu bilden. Die Beweglichkeit dagegen bleibt einem großen Teil dieser Bakterien unter den gleichen Bedingungen erhalten; wo sie im hängenden Tropfen oder im Dunkelfeld vermißt wird, sind Geißeln trotzdem nachweisbar.

2) Die Fraenkelschen Gasbazillen bleiben, unabhängig von der Art des Nährsubstrates, auf dem sie fortgezüchtet werden, dauernd unbeweglich und geißellos. Die Fähigkeit, Sporen zu bilden, ist bei ihnen abhängig von dem Eiweißgehalt und Alkaleszenzgrade des Nährbodens.

3) Sowohl die Bazillen aus der Gruppe des malignen Oedems wie die Fraenkel-Bazillen haben demnach ihre wesentlichen Artmerkmale, unabhängig von der Art der Züchtung, dauernd unverändert beibehalten. Eine Umwandlung im Sinne von Conradi und Bieling hat sich bei beiden Arten nicht feststellen lassen.

4) Agglutinierende und präzipitierende Immunsera der untersuchten 8 Kulturen beeinflussen lediglich den homologen Stamm bzw. das homologe Filtrat. Beide Reaktionen ermöglichen nicht die Einteilung der anaëroben Wundinfektionserreger in bestimmte Gruppen und lassen sich demnach für differentialdiagnostische Zwecke nicht verwerten.

5) Die Komplementbindungsreaktion läßt die Verschiedenheit der einzelnen Kulturen zwar auch erkennen, deutet zugleich aber durch Mitbeeinflussung der heterologen Antigene auf verwandtschaftliche Beziehungen hin, welche zwischen den in Frage kommenden Anaërobiern bestehen.

6) Durch die Komplementablenkung lassen sich die Gruppen der Oedembazillen und Fraenkel-Bazillen bis zu einem gewissen Grade insofern differenzieren, als im all-

gemeinen die Oedemsera die heterologen Antigene stärker beeinflussen als die Fraenkel-Sera. Ferner äußert sich diese Wirkung bei den Oedemseris oft nachhaltiger gegenüber den heterologen Oedemantigenen als gegenüber den Fraenkel-Antigenen und umgekehrt bei den Fraenkel-Seris meist deutlicher gegenüber den heterologen Fraenkel-Antigenen als gegenüber den Oedemantigenen.

7) Die Gegenüberstellung dieser beiden Bakteriengruppen, für welche die Komplementbindungsreaktion gewisse Anhaltspunkte gibt, wird weiter begründet durch morphologische und tierpathogene Eigentümlichkeiten, welche die Differenzierung ohne weiteres ermöglichen.

8) Ebenso wie die Bezeichnung *Bacillus* des malignen Oedems als Sammelbegriff aufzufassen ist, müssen die Fraenkelschen Gasbazillen als Bakteriengruppe, ähnlich dem *Bacillus faecalis alcaligenes*, angesprochen werden.

9) Die Tatsache, daß die Bazillen der malignen Oedem- und der Fraenkel-Gruppe keine Einheiten im serologischen Sinne darstellen, erscheint für die Aussichten der Prophylaxe und spezifischen Therapie nicht ohne Bedeutung.

#### Literatur.

- 1) Fraenkel, München. med. Wochenschr. 1914. S. 2217; 1916. S. 476; Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1533.
- 2) — Ergebn. d. Hyg., Bakt., Immunitätsforsch. u. exp. Ther. Bd. 2. 1917. S. 376.
- 3) Ghon, Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 477.
- 4) — ebenda. 1917. S. 389.
- 5) Aschoff, Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 469.
- 6) Fränkel, Frankenthal u. Königsfeld, Med. Klin. 1916. S. 689.
- 7) Bussan u. György, Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 737.
- 8) Conradi u. Bieling, München. med. Wochenschr. 1916. S. 133, 1023 u. 1561.
- 9) Graßberger u. Schattenfroh, Arch. f. Hyg. Bd. 60. 1907. S. 40.
- 10) Passini, München. med. Wochenschr. 1904. S. 1283.
- 11) v. Hibler, Untersuchungen über die pathogenen Anaeroben. Jena (Fischer) 1908.
- 12) Fraenkel, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902. S. 73.
- 13) Werner, Arch. f. Hyg. Bd. 53. 1905. S. 128.
- 14) Fürth, München. med. Wochenschr. 1916. S. 1169.
- 15) Vogel, Ebenda. 1917. S. 295.
- 16) Fraenkel, Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1405.
- 17) Conradi u. Bieling, Berlin. klin. Wochenschr. 1917. S. 449.
- 18) Selter, Deutsch. med. Wochenschr. 1915. S. 1189.
- 19) Olsen, Med. Klin. 1917. S. 99.
- 20) Bachmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. 1904. S. 353.
- 21) Bonhoff, München. med. Wochenschr. 1917. S. 762.
- 22) Plaut, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 302.
- 23) Gaeltgens, Arb. a. d. Kais. Gesundh.-Amt. Bd. 25. 1907. S. 218 u. Arch. f. Hyg. Bd. 66. 1908. S. 377.
- 24) Altmann u. Schultz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3. 1909. S. 98.
- 25) Gaeltgens, Arch. f. Hyg. Bd. 62. 1907. S. 152.
- 26) Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. S. 55.
- 27) Leclainche et Vallée, Ann. d. l'Inst. Pasteur. T. 14. 1900. p. 513.
- 28) Foth, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 6. 1909. S. 201.
- 29) Graßberger u. Schattenfroh, München. med. Wochenschr. 1902. S. 1570.
- 30) Klose, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 82. 1916. S. 197. (G.C.)

*Nachdruck verboten*

## Zur Technik des Gonokokkennachweises.

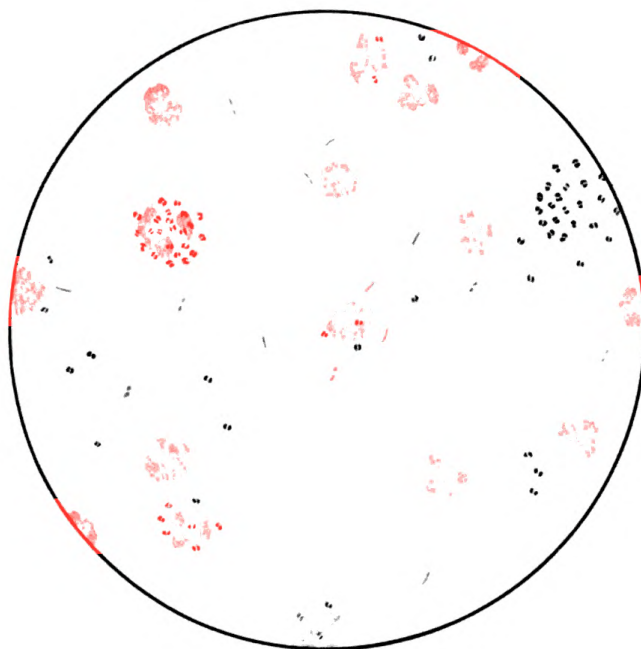
Von Dr. E. Kindborg, Stabsarzt d. L.

Mit 1 farbigen Figur im Text.

Während für den Nachweis der Gonokokken im Sekretabstrich der männlichen Harnröhre bei frischen und frisch behandelten Erkrankungen die einfache Methylenblaufärbung ausreicht, läßt sich dies schon nicht mehr von älteren und ungenügend behandelten Fällen sagen, in denen andere Keime, zumal andere Kokken, sich auf der veränderten Harnröhrenschleimhaut angesiedelt haben. Und noch weit weniger gilt dies nach dem übereinstimmenden Urteil der Untersucher für die Begutachtung aus weiblichen Organen stammender Sekrete, wobei uns oft nur spärliche Gonokokken inmitten einer reichhaltigen Bakterienflora vor Augen treten. Der sich hieraus ergebenden Schwierigkeiten Herr zu werden, ist weit über den Einzelfall hinaus dann von Wichtigkeit, wenn die sanitäre Ueberwachung der Prostituierten dem Untersucher zur Aufgabe gestellt ist. Bei derartigen Untersuchungen kommt man ohne eine differenzierende Färbung nicht aus. Und zwar pflegt als solche im allgemeinen die Gramsche Färbung herangezogen zu werden. Indessen haftet dieser Methode bei aller Einfachheit eine gewisse Empfindlichkeit an; denn sie verlangt einmal eine peinlich saubere Ausführung, ohne die sich leicht Niederschläge bilden, und ist dadurch für Reihenuntersuchung nicht bequem. Zweitens können die Unterschiede gegenüber der Kontrastfärbung, wenn diese stark wirkt, verschwimmen, wogegen eine matte Nachfärbung das Auffinden der Gonokokken bei spärlichem Vorhandensein mühsam und zeitraubend macht. Wären diese Nachteile der Gramschen Färbung nicht vorhanden, so wären nicht zahlreiche andere Methoden für den in Rede stehenden Sonderzweck angegeben worden. Auf der anderen Seite hat sich aber auch von diesen keine einzige bleibenden Eingang verschafft, und noch in seiner kurz vor dem Tode verfaßten Arbeit hat Albert Neißer für den Gonokokkennachweis das Gramsche Verfahren unter Anwendung von Karbolgentianaviolett mit nachfolgender Methylgrün-Pyroninfärbung vor allen anderen empfohlen (Berl. klin. Wochenschr. 1916. No. 28).

In meiner Dienststellung ließ bei mir die regelmäßige Durchsicht der von Prostituierten gewonnenen Präparate den Wunsch nach einer in der Handhabung einfachen und das Auge nicht ermüdenden Methode des Gonokokkennachweises entstehen. Dabei griff ich unter anderem auch auf die von v. Leszczynski vor längerer Zeit angegebene Doppelfärbung mit Thionin-Pikrinsäure zurück, obwohl eine Erreichung des gedachten Sonderzweckes von diesem Verfahren deshalb nicht zu erwarten war, weil der Autor selbst von ihm einräumt, daß die extrazellulären Gonokokken fast regelmäßig die charakteristische Färbung vermissen ließen (Arch. f. Dermatol. Bd. 71. 1904. H. 2/3). Immerhin überzeugte ich mich, daß das verhältnismäßig einfache Verfahren hübsche Bilder zu liefern imstande ist. Die Gonokokken, die intrazellulären wenigstens und ein Teil der anderen, färben sich dunkelbraun (schwarz,





Verlag von Gustav Fischer in Jena

P. Weise, Lith., Jena.



wie der Autor angibt, erhielt ich sie jedoch nur in den seltensten Fällen), andersartige Keime hellrot, wobei die gelben Zelleiber und schwach geröteten Kerne einen sehr zarten Untergrund bilden. Allerdings sind nur ganz dünne Ausstriche bzw. die dünnsten Stellen im Präparate der Durchsicht zugänglich.

Die Originalvorschrift lautet: Fixation in der Flamme; 1 Minute Thioninlösung (gesättigte wässrige Thioninlösung 10, Aq. destill. 88, Acid. carbol. liquefact. 2); Abspülen in Wasser; 1 Minute Pikrinsäurelösung (gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung und 1-prom. Kalilauge zu gleichen Teilen); 5 Sekunden Alcohol absolutus (nicht vorher in Wasser); vorteilhaft, aber nicht unbedingt notwendig: schnelles Verdunstenlassen des Alkohols durch Abblasen mittels Gummiballons; Wasserspülung; Trocknen etc.

Dem gekennzeichneten Nachteil der mangelhaften Färbung extrazellulärer Gonokokken ist es wohl zuzuschreiben, daß das als Zierfärbung wirklich hübsche Verfahren keinen Eingang in die Praxis gefunden hat. Die Lehrbücher pflegen es höchstens kurz zu erwähnen, und auch aus der Spezialliteratur habe ich, soweit sie mir zugänglich war, nirgends eine besondere Berücksichtigung, geschweige denn eine Empfehlung entnehmen können. Um das im Grunde ansprechende Verfahren der Praxis nutzbar zu machen, sah ich mich deshalb veranlaßt, obwohl mir die Modifikation anderweitig angegebener Verfahren grundsätzlich fernliegt, verändernd einzugreifen. Und zwar ging ich dabei von dem Gedanken aus, daß man, um die unbedingt notwendige Erfassung der extrazellulären Gonokokken zu erreichen, auf die Annehmlichkeit des durchscheinend zarten Untergrundes verzichten und insbesondere eine stärkere Kernfärbung in Kauf nehmen müßte. Zu diesem Zwecke bedurfte die vorfärbende Thioninlösung einer Verstärkung. Und diese erzielte ich in einfacher Weise durch Lösung in 50-proz. Alkohol unter geringem Karbolzusatz nach der bekannten Vorschrift von Nicolle. Alsdann färben sich die Zellkerne deutlich rot, die Leukocytenkerne sogar zuweilen braunrot; aber das Ziel, eine durchgreifende Färbung der extrazellulär und vereinzelt gelagerten Gonokokken zu bewirken, wird dabei erreicht. Und vor allen Dingen, die Färbung behält ihren Charakter als eine die gesuchten Mikroorganismen auslesende. Sämtliche Gonokokken werden dunkelbraun (sepiafarben), alle anderen Bakterien rot. Wenigstens habe ich weder in den zahlreichen, von mir nach dieser Methode behandelten Präparaten andere Keime, zumal andere Kokken, gesehen, die die spezifische Braunfärbung annahmen, noch auch bei der Prüfung von Kokken aus Kulturen, die mir gerade zur Hand waren — grampositiven wie gramnegativen — diese Färbung an ihnen erzielt. Das Verfahren ist also für die Praxis eine Sonderfärbung, und zwar eine solche, die mit einfachen Vorschriften und haltbaren Lösungen arbeitet.

Zur Technik ist zu bemerken: Thionin (Grübler) löst sich im heißen Wasserbade in 50-proz. Alkohol zu etwa 1 Proz. Derart erhitzte Lösungen pflegen, unbeschadet ihrer Wirksamkeit, einen rötlichen Farbenton anzunehmen. Im Reagenzglas müssen sie undurchsichtig sein. Bringt man größere Mengen von Thionin in heißes Wasser oder entsprechenden verdünnten Alkohol, so tritt beim Erkalten Quellung des ungelösten Ueberschusses bzw. der ganzen Masse ein, woraus der blaue Farbstoff durch Flüssigkeitszugabe sofort oder auch erst nach dem Eintrocknen wieder in Lösung zu bringen ist. Solche Lösungen fallen dann konzentrierter aus als die unmittelbar hergestellten. — Die fertige Karbolthioninlösung (10 cem der gesättigten Lösung von Thionin in 50-proz. Alkohol plus 100 cem 1-proz. Karbolwasser) muß im Reagenzglas eben durchscheinend sein. Ist sie es nicht, so kann man sie vor Gebrauch zweckmäßig so weit (bis etwa auf die Hälfte) mit Wasser verdünnen. — Pikrinsäure ist nach freundlicher Auskunft der Firma Dr. Grübler u. Co., Leipzig, in gesättigter

wässriger Lösung oder in Substanz, jedoch dann, des gefahrlosen Versandes wegen, mit Wasser angefeuchtet, dort erhältlich.

Die Färbung vollzieht sich dann nach der üblichen Hitzefixation folgendermaßen: Aufträufeln von Karbolthioninlösung (s. o.) 1 Minute; Abspülen mit Wasser; Abtupfen zwischen Fließpapier; Aufträufeln alkalischer Pikrinsäurelösung (gesättigte wässrige Lösung mit 1-prom. Kalilauge zu gleichen Teilen) 1 Minute; Entfernen der Pikrinsäure durch ganz kurzes (sekundenlanges) Uebergießen mit Alkohol, der nicht absolut zu sein braucht; Wasserspülung, Trocknen etc.

Der zum Abspülen benützte Alkohol kann aufgefangen und ein zweites Mal zu gleichem Zwecke verwandt werden. Ebenso kann die Karbolthioninlösung für zwei Präparate hintereinander dienen, falls diese von demselben Patienten stammen. Das Verfahren entspricht also auch der in jetzigen Zeitläuften gerechtfertigten Forderung größtmöglicher Sparsamkeit. Es ist außerdem nicht empfindlich, d. h. die Farbwirkung wird durch ein paar Sekunden mehr oder weniger nicht beeinträchtigt, wenn gleich natürlich die schönsten Präparate bei genauer Einhaltung der Vorschriften entstehen, und diese Eigenschaft macht es auch für Reihenuntersuchungen geeignet. Vielleicht ist es überdies noch weiteren Verbesserungen zugänglich. Immerhin hat es sich bereits in seiner jetzigen Ausgestaltung mir und den Kollegen, denen ich es übermittelte, so gut im Gebrauche bewährt, daß ich es, angesichts der brennenden Frage der Prostituiertenkontrolle, für angezeigt hielt, auch mit der öffentlichen Empfehlung nicht länger zurückzuhalten. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Komplementbindungsversuche bei Schafpocken.

[Mitteilung aus dem Institut für Seuchenlehre der k. ungar. Tierärztlichen Hochschule in Budapest (Direktor: Hofrat Prof. Dr. F. Hutyra).]

Von Dr. R. Manninger.

Bei Menschenpocken wurde die Komplementbindungsmethode wiederholt versucht. Die Mehrzahl der Autoren fand, daß das Blutserum pockenkranker Menschen eine Zeitlang Antikörper enthält, die bei Anwesenheit von Pockenmaterial das Komplement binden. Es zeigte sich aber, daß in der Wirksamkeit der Antigene je nach ihrer Herkunft beträchtliche Unterschiede vorhanden sind. Während nämlich das Serum pockenkranker Menschen, sowie verschiedene Organe an Pocken verstorbener Personen nur in wenigen Fällen brauchbare Antigene lieferten, sind mit Pockenkrusten, sowie Pockenpustelmaterial fast immer positive Reaktionen erzielt worden. Obwohl viele Autoren auch mit Kälberlymphantigen Komplementbindung beobachteten, sind Mitteilungen über Versuche bekannt, wo die Lymphe sich als Antigen nicht bewährt hat. Den Grund hierfür sieht Klein darin, daß nicht jede Lymphe genügend Virus enthält, um als Antigen wirken zu können.

Auch bei Kuhpocken sind Versuche über Komplementbindung gemacht worden. So konnte Jobling im Serum geimpfter Kälber gegenüber aus frischen Impfpusteln hergestelltem Extrakt Ambozeptoren nachweisen, und auch nach Shiga besitzt das Serum vaccinierten Kälber Stoffe, die in Anwesenheit von Lymphe als Antigen das Komplement binden. Dagegen konnten Heller und Tomarkin bei Untersuchung

des Serums immunisierter Kälber mit Lympheantigen keine Hemmung der Hämolyse beobachten.

Ueber Komplementbindungsversuche mit Serum pockenkranker Schafe liegen keine Veröffentlichungen vor. Der Zweck dieser Arbeit war, nachzuweisen, ob sich auch im Serum an Pocken erkrankter Schafe komplementbindende Ambozeptoren nachweisen lassen.

Als Antigen diente eine Emulsion (im Weiteren mit „Bp“ bezeichnet), die folgenderweise hergestellt war: Ein Schaf erhielt in die rasierte Haut der rechten Rumpfsseite an 8 Stellen je 1 Tropfen Ovine injiziert. Am 9. Tage nach der Impfung wurden die auf den Impfstellen entstandenen Hautschwellungen gespalten, die hervorquellende Lymphe wurde aufgefangen und zur weiteren Ovation benutzt. Nach dieser Operation bekam das Tier einen aseptischen Verband angelegt. Die nachher noch hervorsickernde Lymphe trocknete zu gelblichbraunen Krusten ein, die ich abhob und zur Herstellung des Pockenantigens benutzte. 5 g Borkenmaterial wurden zerkleinert und nachher mit 50 ccm 0,5 Proz. Phenol enthaltender physiologischer Kochsalzlösung 12 Stunden lang mit Glasperlen in der Schüttelmaschine geschüttelt. Die erhaltene milchig getrübe Flüssigkeit filtrierte ich durch ein 3-faches Mullfilter und prüfte sie auf ihre Eigenhemmung. Die Flüssigkeit mischte ich in absteigenden Mengen einem hämolytischen System bei und nach 2-stündigem Auf-

Tabelle I.  
Wirksamkeit verschiedener Antigene. Untersuchung am 15. Jan. 1917.

Serum vom Schaf No.	Antigen	Serum + Antigen					0,2 Serum ohne Antigen
		0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	
I	Bp	++++	++++	+++	++	+	—
	K	++	++	+	—	—	—
	P	++++	++++	++	—	—	—
	B	++	—	—	—	—	—
III	Bp	++	++	+	—	—	—
	K	—	—	—	—	—	—
	P	++	+	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—
IV	Bp	++	++	—	—	—	—
	K	—	—	—	—	—	—
	P	+++	++	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—
V	Bp	++++	++++	++	++	+	—
	K	—	—	—	—	—	—
	P	++++	++++	++	—	—	—
	B	+	—	—	—	—	—
VII	Bp	++++	+++	++	+	—	—
	K	—	—	—	—	—	—
	P	++++	++++	+++	++	—	—
	B	—	—	—	—	—	—
IX	Bp	++++	++++	+++	++	++	—
	K	++	++	+	—	—	—
	P	++++	++++	+++	+	+	—
	B	+	—	—	—	—	—

Bezeichnung der Hemmung: + Spur, ++ inkomplett; +++ fast komplett, ++++ komplett.

enthalte im Brutschrank bestimmte ich jene größte Menge des Antigens, die in Anwesenheit von 5-proz. Komplement, 2-facher lösender Hämolysemenge und 5-proz. Hammelblutaufschwemmung die Hämolyse eben nicht mehr hemmte. Im folgenden kam die Hälfte dieser Antigenmenge zur Anwendung. Diese Dosis betrug 0,02 ccm.

Außer diesem Antigen, das sich als brauchbar erwies, versuchte ich noch, aus anderem Pockenmaterial Antigene herzustellen. Zur Verarbeitung kamen verunreinigte Pockenknötchen (Antigen „K“), zerriebene Pockenknötchen (Antigen „P“) und Haut (Antigen „B“) spontan erkrankter Schafe. Diese 3 Stoffe wurden auf dieselbe Weise verarbeitet und die hergestellten Extrakte auf dieselbe Weise geprüft, wie das Antigen „Bp“.

Zu den Versuchen kamen die Mengen 0,01 (Antigen „K“), 0,1 (Antigen „P“) und 0,2 ccm (Antigen „B“) zur Anwendung.

Ich möchte gleich hier vorwegnehmen, daß sich das Knötchenextrakt („P“) ebenfalls als brauchbares Antigen erwiesen hat, dagegen das Serum pockenkranker Schafe mit dem Krusten- und Hautextrakt (den Antigenen „K“ und „B“) keine oder nur eine ganz schwache Bindung ergab (vgl. Tabelle I). Der Grund hierfür ist vielleicht darin zu suchen, daß auch bei den Schafpocken das vorhandene Virus das komplementbindende Prinzip des Extraktes darstellt, wie es bei der Komplementbindung bei Menschenblättern der Fall ist (Klein, Konschegg). Die eingetrocknete reine Lymphe, das Ausgangsmaterial des Antigens „Bp“, sowie die Pockenknötchen, woraus das Antigen „P“ hergestellt wurde, hatten demnach das Pockenvirus in genügender Menge enthalten, dagegen scheint in dem knötchenlosen Hautteil (Antigen „B“) und in den größtenteils aus Verunreinigungen bestehenden Pockenkrusten (Antigen „K“) wenig oder vielleicht gar kein Virus vorhanden gewesen zu sein.

Zu den Versuchen, von denen nunmehr die Rede sein wird, wurde das Antigen „Bp“ benutzt.

Bei den Komplementbindungsversuchen wurde das Meerschweinchenkomplement in jener kleinsten Menge verwendet, die in einem Gesamtvolumen von 5 ccm bei Anwesenheit der 2-fachen lösenden Menge vom Hämolyse, 0,2 ccm normalen, inaktivierten Schafserums und der benutzten Antigenmenge 1 ccm 5-proz. Hammelblutaufschwemmung eben löste. Das zu untersuchende Serum der pockenkranken Schafe wurde in abfallenden Mengen von 0,2—0,01 ccm in inaktiviertem Zustande benutzt. Das inaktivierte Serum kam mit Pockenextrakt und Komplement gemischt für 1 Stunde und nachher mit Hämolyse und Hammelblutkörperchen versetzt für weitere 2 Stunden in den Thermostaten. Die Reaktion wurde abgelesen, wenn in den Kontrollen Serum + hämolytisches System ohne Antigen, und hämolytisches System + Antigen bereits Hämolyse erfolgt war.

#### Versuche mit Seren geimpfter Schafe.

4 gesunde Schafe (No. I—IV) wurden in die Ohrhaut, bzw. in die Schweifhaut mit je 1 Tropfen Lymphe geimpft. Den Schafen wurde aus der Drosselvene zeitweise Blut entnommen und auf Pockenambozeptoren untersucht. Es zeigte sich (vgl. Tabelle II), daß die ersten zweifelhaften Bindungswerte 10—31 Tage nach der Impfung und 3 bis 23 Tage nach dem Auftreten der ersten Krankheitserscheinungen schon festzustellen waren, und daß, wenigstens mit den Serummengen 0,2 und

0,1 ccm, komplette Bindung am 20.—31. Tage nach der Impfung und am 13.—19. Tage nach dem Auftreten der ersten Krankheitserscheinungen schon vorhanden war. Mit kleineren Serummengen, als 0,1 ccm, wurden

Tabelle II.  
Sera geimpfter Schafe.

No. des Schafe	Zeitpunkt der Untersuchung	Serum + Antigen					0,2 Serum ohne Antig.	Bemerkungen
		0,2	0,1	0,05	0,02	0,01		
I	28. XI. bis 11. XII.	—	—	—	—	—	—	Am 28. XI. 1916 in die Ohrhaut geimpft. Am 9. XII. Rötung der Impfstelle. Vom 13. XII. Verschorfung der entzündeten Hautstelle
	17. XII.	++	++	—	—	—	—	
	28. XII.	++++	++++	++++	++	++	—	
	6. I.	++++	++++	++++	++	++	—	
	15. I.	++++	++++	+++	++	—	—	
	3. II.	++	++	—	—	—	—	
II	28. XI. bis 17. XII.	—	—	—	—	—	—	Am 28. XI. 1916 in die Ohrhaut geimpft. Am 5. XII. pfenniggroße Rötung um die Impfstelle. Vom 12. XII. braunroter Schorf auf der Impfstelle
	28. XII.	++	++	—	—	—	—	
	6. I. bis 15. I.	—	—	—	—	—	—	
		—	—	—	—	—	—	
III	28. XI. bis 7. XII.	—	—	—	—	—	—	Am 28. XI. 1916 in die Haut der Unterfläche des Schweifes geimpft. 3. XII. Rötung der Impfstelle, 7. XII. Knötchen, 13. XII. Bläschen, vom 17. XII. Kruste
	11. XII.	+++	++	++	+	—	—	
	17. XII.	++++	++++	++	+	—	—	
	28. XII.	++++	++++	++	++	—	—	
	6. I.	++	++	+	—	—	—	
	15. I.	++	++	+	—	—	—	
IV	28. XI.	—	—	—	—	—	—	Am 28. XI. 1916 in die Haut der Unterfläche des Schweifes geimpft. 4. XII. Rötung der Impfstelle, 5. XII. Knötchen, 11. XII. Krustenbildung, 23. XII. allgemeine Pocken-eruption. Frische Knötchen und Bläschen am ganzen Körper. Vom 29. XII. an Krustenbildung
	7. XII.	++	+	—	—	—	—	
	11. XII.	+++	++	+	—	—	—	
	17. XII.	++++	++++	++	—	—	—	
	28. XII.	++++	++++	++	—	—	—	
	6. I.	++++	++++	+++	++	—	—	
	15. I.	++	++	—	—	—	—	
	3. II.	++	—	—	—	—	—	
IX	28. XII bis 6. I.	—	—	—	—	—	—	Am 23. XII 1916 in die Haut der Unterfläche des Schweifes geimpft, 29. XII. Rötung der Impfstelle, 2. I. 1917 Knötchen, 9. I. Beginn der Krustenbildung
	15. I.	++++	++++	+++	++	++	—	
	3. II.	++++	+++	++	++	+	—	

komplette oder zweifelhafte Bindungswerte erhalten. Eine Ausnahme bot das Verhalten des Schafes II, dessen Serum nur vorübergehend eine zweifelhafte Komplementbindung gab. Das Serum der Schafe I, III und IV behielt eine Zeitlang die Fähigkeit, Komplement zu binden. Positive Reaktionen wurden nach 16—20, zweifelhafte noch 35—48 Tage nach dem ersten Nachweis positiver Reaktionen erhalten.

Es wäre daran zu denken gewesen, daß das Schwinden der positiven Reaktionen nicht in der Abnahme oder nicht nur in der Abnahme des Ambozeptorengehalts des Serums, sondern vielleicht auch in einer Abschwächung des Antigens zu suchen ist. Die Versuche mit dem Serum



des Schafes IX, das 1 Monat später geimpft wurde, als die Schafe I bis IV, bewies jedoch, daß die Wirksamkeit des Antigens genügte, da mit dem Serum in den Mengen von 0,2 und 0,1 ccm 22 Tage nach der Impfung positive Reaktionen erzielt wurden und das Serum auch 40 Tage nach der Impfung in der Menge von 0,2 ccm komplette, in der Menge von 0,1 ccm und weniger fast komplette oder inkomplette Bindungswerte hatte. Diese Versuche wurden zu einer Zeit ausgeführt, wo in den Seren der Schafe I—IV bereits eine Abnahme oder Schwund des Ambozeptorengehalts festgestellt werden konnte.

### Versuche mit den Seren spontan erkrankter Schafe.

4 Schafe wurden mit den am 28. Nov. geimpften Schafen in einem und demselben Stalle gehalten. 3 dieser Schafe erkrankten Ende Dezember an Pocken. Mit den Seren dieser 3 Tiere (vgl. Tabelle III)

Tabelle III.  
Sera spontan erkrankter Schafe.

No. des Schafes	Zeitpunkt der Untersuchung	Serum + Antigen					0,2 Serum ohne Antig	Bemerkungen
		0,2	0,1	0,05	0,02	0,01		
V	11. XII.	—	—	—	—	—	—	Vom 5. XII. 1916 mit den Schafen I—IV in einem und demselben Stalle gehalten. Am 27. XII. Knötchen am Kopfe und Rücken, sowie an den unbewollten Körperteilen. Vom 31. XII. an Bläschen
	—28. XII.							
	6. I.	++++	++++	+++	++	++	—	
	15. I.	++++	++++	++	++	+	—	
VI	11. XII.	—	—	—	—	—	—	Vom 5. XII. 1916 mit den Schafen I—IV in einem und demselben Stalle gehalten. Am 26. XII. allgemeiner Pockenausschlag mit hochgradigem Bindehautkatarrh und Nasenausfluß. Fieber 40,5—41,8° C. Vom 1. I. 1917 an Schwellung der Nasenumgebung, schniefendes Atmen. Am 5. I. morgens tot aufgefunden
	—28. XII.							
	5. I. (nach dem Tode entnommen)	+++	++	—	—	—	—	
VII	11. XII.	—	—	—	—	—	—	Vom 5. XII. 1916 mit den Schafen I—IV in einem und demselben Stalle gehalten. Am 27. XII. Knötchen am ganzen Körper. Vom 3. I. 1917 an Bläschen
	—28. XII.							
	6. I.	+++	++	+	—	—	—	
	15. I.	++++	+++	++	+	—	—	

ließen sich 9 Tage nach dem Auftreten des Exanthems positive oder zweifelhafte Bindungen erzielen. 9 Tage nachher banden die Sera der 2 am Leben gebliebenen Tiere in der Menge von 0,2 ccm, das eine der Seren auch in der Menge von 0,1 ccm vollständig das Komplement, bei dem anderen war dagegen mit dieser Serummengung keine komplette Bindung zu beobachten. Das 4. Schaf, das mit den geimpften Tieren

in einem Stalle gehalten wurde, erkrankte bis Mitte Januar nicht an Pocken. Auch die Komplementbindungsreaktionen fielen mit dem Serum dieses Schafes negativ aus.

Im Weiteren untersuchte ich 17 Sera, die von Schafen einer Herde stammten, wo fast alle Tiere an Pocken erkrankt waren. Bei einigen der Tiere, deren Blut zur Untersuchung kam, bestanden lediglich Knötchen, dagegen waren bei den meisten bereits Krusten und Narben vorhanden. Es befand sich unter ihnen auch ein vor 3 Wochen in die Schweifhaut geimpftes Lamm. Ein Stadium vesiculosum war bei diesem Seuchengang überhaupt nicht beobachtet worden. Näheres über den zeitlichen Verlauf des Exanthems ließ sich nicht erfahren. Die Komplementbindungsreaktion ergab folgende Resultate:

Bei den Tieren im Stadium papulosum und crustosum (3 und 8 Fälle) war vollständige Bindung mit den Serummengen 0,2—0,05 ccm, geringere Bindungswerte noch in den Konzentrationen 0,02—0,01 ccm vorhanden. Die Sera von Tieren (5 Fälle), bei denen nur noch Narben auf die vorangegangene Pockenkrankheit hinwiesen, hemmten in den Mengen von 0,2 und 0,1 (in einem Falle sogar von 0,05) ccm vollständig, in den Mengen von 0,05—0,02 ccm teilweise oder wenigstens in Spuren die Hämolyse. Das Serum des geimpften Lammes, bei dem die Impfstelle mit einer Kruste bedeckt war, zeigte in den Mengen von 0,2—0,05 ccm vollständige, in den Mengen von 0,02—0,01 ccm inkomplette Bindung.

### Zusammenfassung.

Die mitgeteilten Versuche gestatten die Schlußfolgerung, daß im Laufe der Pockeninfektion bei Schafen im Serum hitzebeständige Ambozeptoren erscheinen, die mit Extrakt aus reinen Pockenkrusten oder aus frischen Pockenknötchen Komplement binden. Die Anwesenheit von Ambozeptoren läßt sich sowohl im Serum der Schutzimpfung unterzogener Tiere, als auch im Serum spontan an generalisierten Pocken erkrankter Schafe nachweisen. Dagegen enthält das Serum gesunder Schafe keine Stoffe, die in Anwesenheit von Pockenextrakt die Hämolyse hemmen.

### Literatur.

- Klein, München. med. Wochenschr. 1914. S. 2270. (Literatur über Komplementbindung bei der Variola humana.)  
 Korschegg, Ebenda. 1915. S. 4.  
 — Wien. klin. Wochenschr. 1915. S. 442.  
 Jobling, Journ. of exp. Med. 1906. No. 6; zit. bei Heller u. Tomarkin.  
 Ehiga, Ogata-Festschrift. (Ref. Weichardt, Jahresber. über d. Ergebn. d. Immunitätsforsch. Bd. 6. 1910. S. 502.)  
 Heller u. Tomarkin, Deutsch. med. Wochenschr. 1907. S. 795. (G.C.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Paragglutination.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag  
(Vorstand: O.-St.-A. Prof. O. Bail).]

Von Prof. Dr. G. Salus.

Gelegentlich der Erörterung der Weil-Felixschen Reaktion drängte sich die Frage auf, ob die Art *Proteus* etwa besonders zur Erwerbung von artfremden Rezeptoren neige, was die Möglichkeit erhöhen würde, daß es sich um Paragglutination mit Fleckfieberserum handeln könnte. Die Versuche, den Stämmen x, x<sub>19</sub>, x Lemberg in vitro Rezeptoren für Typhus- oder Y-Serum anzuzüchten, endeten resultatlos, ebenso Versuche mit einem saprophytischen *Proteus*-Stamm, während 2 andere solche Stämme wegen starker Verschleimung zum Agglutinationsversuch ungeeignet waren. Die Versuche wurden mit spezifischen festen Nährböden angestellt, die mit sterilisierter Typhus- und Y-Bouillon hergestellt waren, dann aber auch durch Symbiose der Protei mit den pathogenen Stämmen in flüssigen Nährsubstraten. Letztere ergaben dann bei Substitution der Protei durch *B. coli* und *B. faecalis alcaligenes* einigemal positive Resultate, welche hier mitgeteilt werden sollen, obwohl sie keineswegs jene hohen Werte erreichten, welche Ph. Kuhn (1) in seinen Versuchen erzielte, während andererseits solche Versuche oft negativ ausgefallen sind. Bei den Versuchen der künstlichen Anzüchtung der Fähigkeit, agglutiniert zu werden, haben wir den Vorteil, die agglutinatorischen Verhältnisse des Ausgangsstammes feststellen zu können. Wir beschränkten uns auf die Ermittlung der erlangten Agglutinabilität durch das homologe spezifische Immunserum, mit dem die Ausgangskultur geprüft worden war, und wählten Stämme, die für Typhus- bzw. Y-Serum völlig inagglutinabel waren, da es sich zunächst um orientierende Versuche handelte. Zunächst mögen die positiven Züchtungsversuche mitgeteilt werden.

I. *Bact. typhi* und *B. coli* 2.—7. März in 50 ccm Bouillon in 100 g-Kölbchen gezüchtet. 8. März Drigalski-Platte, 9. März auf Schrägagar überimpft.

Titer des Kaninchen-Typhusserums 1:10 000 Agglutination des Coli-Stammes  $\theta$ ,  
" " Typhusstammes: Titergrenze

1. Schrägagargeneration	Coli	1:1000	} Von der 2. Generation wurden Drigalski-Platten beimpft. Neben vielen roten eine beträchtliche Zahl bläulicher bis blauer <sup>1)</sup> Kolonien. Auch letztere vergären Traubenzucker intensiv und erweisen sich als Coli-Bakterien. 2 rote und 2 blaue auf Schrägagar beimpft. Alle 4 werden vom Typhusimmunserum bis 1:1000 agglutiniert.
2. "	"	1:1000	
3. "	"	1:1000	
4. "	"	1:500	
5. "	"	1:500	
6. "	"	$\theta$	
(7. "	"	$\theta$	

1) Die Ermittlung von H. Wollin, daß das Spaltungsvermögen der Coli-Keime individuell verschieden ist, wird durch die von Gaßner erbrachte Tatsache, daß das Auftreten von blauen und roten Kolonien bei einem optimalen Verhältnis von N- und Zuckergehalt des Nährbodens besonders statt hat, nicht widerlegt.

II. Anaërobioseversuch. Leberstückchen vom Meerschweinchen in Bouillonkölbchen wie bei I. Symbiose von *B. typhi* und *B. coli* 2. März bis 15. März. Dann *B. coli* herausgezüchtet. Unter vielen blauen Kolonien eine einzige rote. Diese wird geprüft. Typhusimmunserum 1:10 000

1. Schrägagargeneration	1:1000
2. „	1:500 inkomplett
3.—9. „	ebenso
10. „	nicht mehr deutlich.

Aus demselben Kölbchen am 28. März *B. coli* herausgezüchtet. Reguläre Agglutination unter 1:500, Kuhn-Woithesche Häutchenbildung bis 1:2000.

III. Ascitesbouillon. Symbiose von Typhus- und Coli-Bakterien 19. Febr. bis 21. März.

1. Schrägagargeneration	bloß Kuhn-Woithe	1:250
2.—5. „	„	1:250
6. „	nicht mehr deutlich.	

(Bei Anwendung eines hochwertigen Typhuskaninchenserums [1:64 000] ist das Phänomen bis 1:2000 in denselben Generationen deutlich.)

IV. *B. faecalis alcaligenes*. Titer des Typhusimmunserums 1:64 000. Keine Mitagglutination des *Alcaligenes*-Stammes. Symbiose desselben mit Typhusbazillen in Bouillonkölbchen 26. März bis 2. April. Drigalski-Platte, 3 Kolonien auf Schrägagar übertragen.

Kolonie a und c werden vom Typhusserum nicht agglutiniert.

Kolonie b:	1. Schrägagargeneration	1:1500	komplett
	2.—6. „	1:1500	„
	7. „	1:1000	„
	8. u. 9. „	1:1000	inkomplett
	10. „	1:500	„
	11. u. 12. „	1:250	alles „ inkomplett
	13. u. 14. „	1:500	„ „
	15. u. 16. „	1:250	„ „
	17. „	1:100	„ „
	18. „	0	

Nach weiteren 6 Tagen, dann wieder nach 6 Tagen aus demselben Kölbchen gewonnene *Alcaligenes*-Kolonien zeigen keine Agglutination mit Typhusserum, erst nach nochmals 14 Tagen, also nach im ganzen 33-tägiger Symbiose wird abgeimpft, 4 Kolonien von der Drigalski-Platte auf Schrägagar übertragen. Titer des Typhusserums 1:64 000.

Kolonie 1: 1:250 komplett, 1:500 inkomplett; 2. Generation ebenso

2: 1:500 1:1000 fast komplett

3: 1:250 „ noch bei 1:1000 Flocken; 2. Gen. 1:100 kompl., 3. Gen. 0

4: negativ.

Diesen positiven Versuchen steht eine Reihe negativer gegenüber, die in gleicher Weise angelegt waren, so daß die Bedingungen des Zustandekommens der Paragglutination daraus nicht klar hervorgehen. Nur das ist deutlich, daß es sich um eine individuelle Fähigkeit einzelner Keime einer Kultur handelt, daß die Entstehung durch die längere Dauer der Symbiose nicht befördert wird — sind doch die guten Resultate binnen 5—14 Tagen erzielt — und es scheint auch, daß die nähere Verwandtschaft bevorzugend wirkt, da wir bei *Coli* und *F. alcaligenes* durch Typhus-symbiose positive Resultate erhielten, während die Symbiose mit *Y* ohne Erfolg blieb. Doch möchten wir letzteres nicht strikt behaupten, da die Zahl der Versuche dazu zu klein ist und ruhrparagglutinierte *Coli*-Stämme reichlich aus dem Körper gezüchtet wurden. Ueber die Art der Versuchsanordnung unterrichtet die folgende Tabelle der negativen Züchtungsversuche:

## Abimpfung.

1)	Bouillon	Bact. coli u. typhi	19.—22. Febr. neg., 26. Febr. neg., 14. März neg.
2)	"	" " dys. Y	19.—22. " " 26. " " 14. " "
3)	Ascitesbouill.	" " typhi	19.—22. " " 26. " " 14. " "
4)	"	" " dys. Y	19.—22. " " 26. " " 1:100 Kühn-Woithe
5)	In 15-täg. Typhusbouill.	B. coli geimpft	19.—22. Febr. neg., 26. Febr. neg.
6)	Y-Bouillon	"	19.—22. " " 26. " "
7)	Menschen Serum	B. typhi u. coli	19.—22. Febr. neg., 8. März neg., 28. März neg.
8)	"	" " "	26.—29. " " 8. " " 28. " "
9)	"	" Y	26.—29. " " 8. " " 28. " "
10)	"	" " "	26.—29. " " 8. " " 28. " "
11)	Bouillon	" " "	2.—7. März " " 28. " "
12)	Leberbouillon	" " "	2.—13. " " 28. " "

Beim Versuche, in Bouillon Flexner- und Kruse-Shiga-Stämme zusammenzuzüchten, gingen nach 8 Tagen nur Flexner-Kolonien auf, die vom Flexner-Serum (1:1000) bis zur Titergrenze, vom Shiga-Serum (1:2000) ebenso wenig wie der Ausgangsstamm beeinflusst wurden. Nun wurde nochmals Kruse-Shiga in das Kölbchen geimpft und nach weiteren 13 Tagen wieder nur vom Shiga-Serum unbeeinflusster Flexner mit dem ursprünglichen Agglutinationswert gegen homologes Serum gewonnen.

Erwähnung verdienen noch folgende beiden Tierversuche:

Ein Kaninchen wird 3mal mit abgetöteten (75°) Typhuskulturen injiziert; sein Serومتiter vor der 2. Injektion ist ca. 1:1000. Nun wird in eine tiefe Hauttasche ein mit Coli-Bouillon getränktes Wattebäuschchen eingeführt. Nach 6 Tagen werden sowohl aus der Wunde als aus dem Kot des Kaninchens Coli-Bazillen isoliert, ebenso nach weiteren 7 Tagen, da der Titer auf 1:4000 gestiegen ist. Alle Agglutinationsversuche sind negativ. (Jetzt wird  $\frac{1}{50}$  Oese Coli intravenös injiziert, das Tier nach 1 Woche getötet, doch gelingt es nicht mehr, aus Herzblut, Harn, Milz, Leber die Coli-Bazillen zu züchten.)

Der gleiche Versuch wird mit einem in gleicher Weise gegen Dys. Y immunisierten Kaninchen angestellt mit demselben negativen Resultat. Nur die 3 aus dem Milz-Lebergemisch gezüchteten Coli-Kolonien verhalten sich ein wenig anders als der Ausgang (Titer dieses Tierserums ca. 1:4000).

Kolonie 1: Schrägagar 1. Generation agglutiniert 1:100 (Immunserumtiter 1:1000)

" 2. " "  $\emptyset$

" 3. " "  $\emptyset$

Kolonie 2: " 1. " " 1:250

" 2. " "  $\emptyset$

" 3. " "  $\emptyset$

Kolonie 3: " 1. " " 1:250 fast komplett

" 2. " "  $\emptyset$

" 3. " "  $\emptyset$

Sonach darf man wohl, in Uebereinstimmung mit Versuchen anderer Autoren, schließen, daß es nicht der Gehalt des Tierserums an Immunkörpern ist, der die Entstehung der Paragglutination bedingt, und daß dies wohl andere Faktoren im kranken Körper sein müssen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß wir aus zwei Stühlen nach abgelaufener Dysenterie Kruse-Shiga (beide Patientensera agglutinierten nur die Kruse-Shiga-Bazillen 1:200), aus dem Stuhl eines Y-Dys-

enterie- und eines Paratyphus A-Kranken keine paragglutinierenden Coli-Stämme erhielten, aus dem dysenterieverdächtigen Stuhl Bèl., der keine Dysenteriebazillen aufwies, unter 4 untersuchten Coli-Kolonien 3 mit dem Shiga-Titer 1:200 (Immunserumtiter 1:2000), alle negativ gegen Flexner- und Y-Sera, die Agglutination hielt nur durch 2—3 Generationen an. Die geringe Ausbeute ist bei der Zahl der untersuchten Kolonien (8—11) begreiflich, da nach Flatzek ca. 2 Proz. der Coli Paragglutination zeigen.

Es gelang uns sonach, mäßige Grade von Paragglutination durch Züchtung von *B. coli* oder *B. faecalis* alcaligenes zusammen mit *B. typhi* in unspezifischen flüssigen Nährböden zu erzielen, wobei sich diese Eigenschaft als eine individuelle, einzelnen Keimen derselben Kultur zukommende erwies und die Zeit der Symbiose von 5—14 Tagen als Optimum. In 2 Tierversuchen ergab sich anscheinend der Immunkörpergehalt des Blutes als belanglos, da Paragglutination nicht erzielt wurde, was die Vermutung nahelegt, daß es andere, im kranken Organismus wirksame Faktoren, zusammen mit der Symbiose mit Erregern, sein müssen, die den Bakterien die neue Eigenschaft verleihen. Vielleicht ist die nahe Verwandtschaft der geprüften Keime für das positive Resultat unter so einfachen Verhältnissen von Belang, da wir durch Symbiose mit Dysenterie-Y das gleiche nicht erzielten.

Von Kuhn und Woithe (1) wird die Vergänglichkeit der Paragglutination als charakteristisch angesehen, indessen liegen auch Beobachtungen vor über nach langer Dauer noch unveränderte paragglutinable Stämme, wie die Stämme mit Ruhrparagglutination von Flatzek (2), welche weiter zu beobachten sehr wünschenswert ist; die Einteilung dieses Autors in 2 Gruppen ist ansprechend. Ist die Auffassung, daß es sich bei der Paragglutination um die Adsorption von Erregersubstanz handelt, für die rasch vergängliche Erscheinung annehmbar, da sich diese Substanz in Bälde erschöpfen muß, so wird man im allgemeinen und besonders für die zweite Gruppe Flatzeks die Theorie von Kuhn und Woithe (1) bevorzugen, wonach es sich um die Anzüchtung neuer Rezeptoren handeln dürfte. Fraglich erscheint es jedoch, ob diese Auffassung im Widerspruch steht mit dem Auftreten pathogener Fähigkeiten bei diesen neuen Stämmen, oder ob sie ein solches nicht vielmehr wahrscheinlich macht. Denn eine derartige Aenderung des arteigensten Merkmals dürfte notwendig eine Umwandlung des Protoplasmas verlangen, und daß eine solche, unter dem Einflusse des Körpers und der Symbiose mit einem spezifischen Erreger genügend weit gediehene Protoplasmaänderung zu pathogenen Fähigkeiten von gewisser und schließlich ausgesprochener Spezifität führen könnte, ist theoretisch plausibel. Die Uebertragung der Mutationsforschung auf dieses Gebiet ist durchaus gestattet, man kann die Paragglutination mit Busson (3) auch ohne Klausel — als Mutation in serologischer Beziehung nehmen, nur ist strenge Selbstkritik bei allen neuen Beobachtungen unerlässlich. Wir stimmen Köhlisch (4) nicht bei, wenn er vermutet, daß *B. coli* vielleicht im Körper in *B. typhi* übergeht; wir können als sicher annehmen, daß die Phylogenese der stabilen Erregertypen auf lange Zeit und zahllose Generationen zurückgeht; aber nach Etappen der phylo-

genetischen Entwicklung dürfen wir heute ohne weiteres suchen, besonders bei Krankheiten mit offenbar noch nicht stabilisiertem Erreger, wie es besonders die Ruhr ist, die immer mehr als eine noch im Werdegang begriffene Infektionskrankheit erscheint mit dem Typus Kruse-Shiga als der zymotisch inaktivsten, toxisch hochaktiven, zurzeit am meisten gefestigten der Erregerstufen. Der Versuch von Seligmann (5). die Neuentstehung infektiösen Materials bei den Ruhrepidemien zu beweisen, ist durchaus beachtenswert; es kommen da atypische Stämme zum Vorschein, und dieses Nebeneinander verschiedener Formen gibt einen gewissen Einblick in die phylogenetische Entwicklung. Gerade bei jenen Infektionskrankheiten, bei welchen der Nachweis der Erreger so oft mißlingt, besonders bei (typhoiden und) dysenteroiden Erkrankungen wird es nötig sein, in Zukunft ausführlich unter den bisher beiseite gelegten, anscheinend saprophytischen oder inagglutinablen Kolonien nach solchen Etappen bakteriologisch und serologisch zu suchen, denn die Vermutung ist nicht abzuweisen, daß bei diesen Krankheiten, die definierten Infektionskrankheiten ähneln, ohne sie zu erreichen, und die meist einen leichteren Verlauf nehmen, derartige noch nicht in der Entwicklung abgeschlossene Etappenstufen am Werke sind. Vom Tierversuch ist da nicht viel zu erwarten, da gerade in der Typhus-Coli-Dysenteriegruppe die Erscheinungen im Experiment unspezifischer Art sind und Menschenpathogenität und Tiervirulenz in keinem ausschlaggebenden Verhältnis stehen.

#### Literatur.

- 1) Kuhn u. Woithe, Med. Klin. 1909. No. 45.
- 2) Flatzek, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 200.
- 3) Busson, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57 (u. 73).
- 4) Köhlisch, Berl. klin. Wochenschr. 1916. S. 358.
- 5) Seligmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. H. 2.
- 6) Kuhn, Ph., Arch. f. Hyg. Bd. 68. H. 4 u. 5.

(G. C.)

*Nachdruck verboten*

## Ueber die Beeinflussung der Agglutininproduktion.

[Aus dem Vet.-pathologischen Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. Walter Frei).]

Von **Walter Pfenninger**, Zürich.

Mit 7 Kurven im Text.

Die Frage nach der Wirkungsweise verschiedener, therapeutisch bei Infektionskrankheiten wirksamer Präparate hat dazu geführt, die betreffenden Substanzen bei infizierten Versuchstieren anzuwenden und deren Einfluß auf das Verhalten der Abwehrvorrichtungen des Serums, speziell auf die Agglutinine und Bakteriolyse zu eruieren. Auf diese Art ist eine stattliche Anzahl von Substanzen geprüft worden. Speziell über die Arsenpräparate, welche in der Therapie der Protozoenkrankheiten wichtig geworden sind, liegt eine Reihe von Untersuchungen vor:

Reiter<sup>1)</sup> konnte beim Salvarsan auf die Produktion von Antikörpern keinen wesentlichen Einfluß konstatieren. Agazzi<sup>2)</sup> untersuchte verschiedene Arsenpräparate bezüglich ihres Einflusses auf Typhusantikörper, und konnte bei sämtlichen (Acid. arsenicos., Atoxyl, Arsenophenylglycin, Atoxyl + Thioglykolsäure) eine bedeutend gesteigerte Antikörperproduktion wahrnehmen. Fraenkel<sup>3)</sup> untersuchte den Einfluß von Alkoholgaben auf die Antikörperproduktion und konstatierte sowohl durch einmalige, wie durch öftere Alkoholgaben eine günstige Wirkung auf die Produktion spezifisch bakteriolytischer Antikörper bei Typhus- und Cholerainfektionen von Versuchstieren. P. Th. Müller<sup>4)</sup> fand bei mit Alkohol längere Zeit behandelten Tieren eine gegenüber Kontrolltieren um das Vierfache verminderte Antikörperproduktion. Friedbergers<sup>5)</sup> Untersuchungen zeigten, daß eine einmalige Alkoholverabreichung eine Steigerung, eine fortgesetzte Alkoholdarreichung dagegen eine Verminderung der Antikörperproduktion zur Folge habe. Diese Ergebnisse hatten auch Versuche von Müller und Trommsdorff<sup>6)</sup>. Untersuchungen von E. Friedberger und Masuda<sup>7)</sup> haben gezeigt, daß mit Salvarsan bei Kaninchen, die mit *Vibrio Metschnikovii* infiziert waren, eine Antikörperproduktionssteigerung bis zum 32-fachen der Kontrolltiere erzielt werden kann. Einen Einfluß auf die Agglutininproduktion hat P. Th. Müller<sup>8)</sup> durch verschiedene Ernährung bei Tauben nachgewiesen; Aleuronat hat nach dem gleichen Autor eine beträchtliche Verminderung der Antikörperproduktion zur Folge; eine deutliche Steigerung derselben wird durch zimmtsäures Natron hervorgerufen. Interessante Untersuchungen von Pitini und Fernandez<sup>9)</sup> haben gezeigt, daß Erwärmung von Tieren, deren Agglutinations- und bakteriolytisches Vermögen herabsetzt, bzw. die Erzeugung von Agglutininen und Bakteriolytinen hindert, daß dagegen kleine antipyretische Dosen das Agglutinations- und das bakteriolytische Vermögen steigern.

Im folgenden sind die Protokolle wiedergegeben über einige Versuche, welche zur Aufgabe hatten, aus der Reihe der Substanzen, welche wir bei der Phagocytose angewendet haben<sup>10)</sup>, einige auf ihren Einfluß bezüglich der Blutantikörper und im speziellen der Agglutinine zu untersuchen. Wir haben hierzu von den anorganischen Salzen gewählt:  $\text{CaCl}_2$  und  $\text{NaBr}$ , welche von den betreffenden Ionenreihen die Phagocytose am meisten begünstigen, ferner  $\text{SrCl}_2$  und  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , welche eine Hemmung der Phagocytose gezeigt haben. Aus der Reihe der organischen Ionen wählten wir Na-Propionat, als Vertreter der Terpene Cymol und von den Kresolen das m-Kresol.

Was die Technik anbetrifft, sei folgendes bemerkt: Als Versuchstiere wurden Kaninchen gewählt. Die Tiere, die jeweils für eine Serie verwendet wurden, waren von ungefähr gleichem Gewicht und wurden unter gleichen Bedingungen gehalten. Außer dem Tier, das eine Infektion mit der zu prüfenden Substanz erhielt, enthielt jede Serie ein Kontrolltier mit der Infektion allein, ein solches, welchem nur die Substanz einverleibt worden war, und ferner ein Kontrolltier, welches weder infiziert, noch mit der Substanz behandelt war, um die Schwankungen des Normaltiters bzw. dessen durch den öfteren Blutentzug eventuell entstandene Veränderungen anzuzeigen. Allen Tieren wurde zwecks Bestimmung des Normaltiters vor der Infektion und Salzapplikation eine Blutentnahme gemacht. Zur Infektion wurde ein Stamm von Staphylo-

1) Reiter, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 15. S. 116.

2) Agazzi, Ebenda. Bd. 1.

3) Fraenkel, Berlin. klin. Wochenschr. 1905.

4) Müller, P. Th., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. 1901.

5) Friedberger, Berlin. klin. Wochenschr. 1904.

6) Trommsdorff, Arch. f. Hyg. Bd. 59.

7) Friedberger u. Masuda, Therapeut. Monatsh. 1911.

8) Müller, P. Th., Arch. f. Hyg. Bd. 51.

9) Pitini e Fernandez, Riform. med. 1914. p. 836. — Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref.-Bd. 63. 1915. S. 289.

10) Ueber den Einfluß von Salzlösungen auf das phagocytäre Vermögen der Leukocyten. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1916. No. 21.)



*coccus pyogenes albus* genommen, den wir von einem Feldhasen gewonnen hatten, der an Staphylokokkenseuche eingegangen war; dieser Stamm hatte sich bei einer Vorprüfung als gut agglutinabel erwiesen. Die Infektion der Tiere geschah intravenös an der Ohr randvene mit einer ziemlich stark opaleszierenden Emulsion aus eintägigen Agarschiefkulturen; diese waren in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und während 30 Minuten bei 60° abgetötet worden. Die Salzlösungen wurden ebenfalls intravenös am Ohr appliziert, und zwar je 2 ccm der betreffenden  $\frac{1}{10}$  N-Lösung der Substanz; es wurde nur eine einmalige Salzapplikation vorgenommen, und zwar simultan mit der Infektion. Nach der jeweiligen Entnahme von Blut wurde dasselbe sofort zentrifugiert und das Serum zur Agglutination verwendet. Je  $\frac{1}{2}$  ccm der betreffenden Serumverdünnung wurde mit  $\frac{1}{2}$  ccm der oben beschriebenen Bakterienemulsion zusammengebracht; die Agglutinationen wurden 2 Stunden im Brutschrank bei 37° und nachher noch ca. 15 Stunden bei Zimmertemperatur belassen und dann die Resultate mit Hilfe der Lupe abgelesen.

Die folgende erste Versuchsreihe zeigt den Einfluß von  $\text{CaCl}_2$  auf die Agglutininproduktion:

1. Blutentnahme vor der Infektion (15. Juni 1916, 10 h. a. m.).

Tabelle 1.

Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	Kontrolle
29	+	+	+	±	—	—	—
30	++	+	+	+	—	—	—
31	+	+	+	±	—	—	—
8	++	+	+	+	—	—	—

Am 16. Juni wurden die Tiere No. 30 und 31 mit je 2 ccm der Bazillenemulsion intravenös gespritzt. Zugleich wurden den Tieren No. 29 und 31 intravenös je 2 ccm der  $\frac{1}{10}$  N-Lösung von  $\text{CaCl}_2$  appliziert, so daß also:

No. 29 Kontrolltier war, zu zeigen, daß die Salzinjektion allein keine Antikörpersteigerung hervorrief;

No. 30 als infiziertes Kontrolltier den durch die Infektion erreichten Titer des Immunserums angab;

No. 8, das weder infiziert, noch mit  $\text{CaCl}_2$  behandelt wurde, Normalkontrolltier war, zu zeigen, daß während der Versuchsdauer keine Schwankungen des Normaltiters vorkamen;

No. 31 Kontrolltier war, den Einfluß des zu prüfenden Salzes auf die Infektion darzutun.

- Die 2. Blutentnahme geschah ca. 5 Stunden nach der Infektion.

Tabelle 2.

Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1700}$	Kontrolle
29	+	+	+	+	±	—	—	—	—
30	+	+	+	+	+	+	—	—	—
31	+	+	+	+	+	±	—	—	—
8	+	+	+	+	—	—	—	—	—

Die beiden infizierten Tiere wiesen einen starken Titeranstieg auf. Die Schwankungen der nicht infizierten Kontrolltiere sind gering.

Tabelle 3.

Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1200}$	Kontrolle
29	+	+	+	+	—	—	—	—	—
30	+	+	+	+	+	+	—	—	—
31	+	+	+	+	+	+	±	—	—
8	+	+	+	+	±	—	—	—	—

Hier hat die Antikörperkurve des Tieres No. 31 bereits ihr Maximum erreicht.

Tabelle 4.

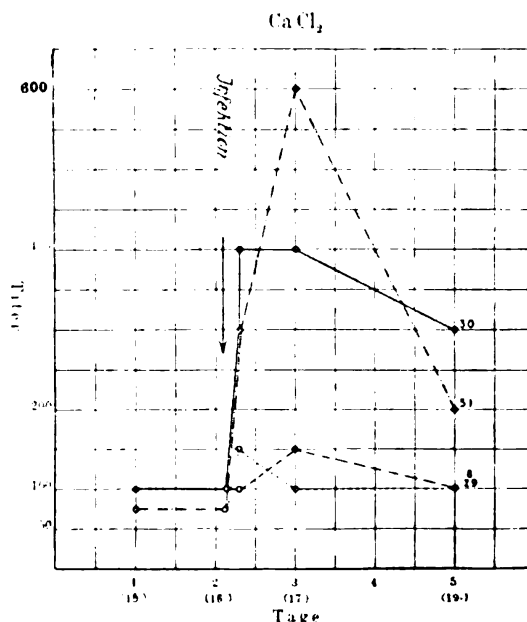
Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1200}$	Kontrolle
29	+	+	+	+	—	—	—	—	—
30	+	+	+	+	+	±	—	—	—
31	+	+	+	+	+	—	—	—	—
8	+	+	+	+	—	—	—	—	—

Kurvenmäßig dargestellt, ergibt die Agglutinationsschwankung folgendes Bild:

$\text{CaCl}_2$  hat also in der ersten Phase der Antikörperproduktion eine, wenn auch nicht sehr auffällige, so doch deutlich merkliche Erhöhung der Antikörperproduktion zur Folge, welche allerdings sehr rasch abnimmt. Auffällig ist das sehr rasch nach der Infektion eintretende Maximum der Agglutinincurve, das auf der etwas zu starken bzw. zu dichten Bakterienemulsion beruhen mag, die bei diesem ersten Versuche verwendet wurde und die eine plötzliche, starke Inanspruchnahme der Serumabwehrvorrichtungen zur Folge hatte und dieselben rasch erschöpfte.

Die therapeutischen Erfolge, welche in der Praxis bei Infektionskrankheiten mit Ca-Gaben, speziell bei Tuberkulose zu verzeichnen sind, beruhen offensichtlich auf der sehr stark phagocytosebefördernden Wirkung von Ca und weniger auf einer Steigerung der Antikörperproduktion.

Die folgende Versuchsserie umfaßt die 3 Substanzen  $\text{SrCl}_2$ ,  $\text{NaBr}$  und  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Die Versuchsanordnung ist die eingangs beschriebene. Die Staphylokokkenemulsion wurde diesmal etwas stärker verdünnt verwendet.



Kurven 1.

Die Normaltiter der Seren der verwendeten Tiere zeigt folgende Tabelle:

Tabelle 5.

Tier No.	$1/10$	$1/20$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	Kontrolle
43	+	+	+	+	—	—	—
44	+	+	+	+	±	—	—
45	+	+	+	+	±	—	—
47	+	+	+	+	±	—	—
49	+	+	+	+	±	—	—
50	+	+	+	+	—	—	—
51	+	+	+	+	—	—	—
161	+	+	+	+	—	—	—

24 Stunden nach dieser ersten Blutentnahme erfolgte die Infektion. Intravenös infiziert wurden die Tiere No. 43, 44, 45 und 47. Die Salze kamen in  $1/10$  N-Lösungen intravenös zur Anwendung, und zwar erhielten je 2 ccm der betreffenden Lösung:

No. 44 und 49  $\text{SrCl}_2$ ,  
 „ 45 „ 50  $\text{NaBr}$   
 „ 47 „ 51  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

Als Salzkontrollen dienten demnach die Tiere 49, 50 und 51. No. 161 zeigt die Schwankungen des Normaltiters und No. 43 den Titerverlauf des infizierten, nicht behandelten Tieres.

Die 1. Blutentnahme geschah 24 Stunden nach der Infektion.

Tabelle 6.

Tier No.	$1/10$	$1/20$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	Kontrolle
43	+	+	+	+	+	—	—	—	—
44	+	+	+	+	+	±	—	—	—
45	+	+	+	+	+	±	—	—	—
47	+	+	+	+	±	—	—	—	—
49	+	+	+	+	±	—	—	—	—
50	+	+	+	+	—	—	—	—	—
51	+	+	+	+	—	—	—	—	—
161	+	+	+	+	—	—	—	—	—

2. Blutentnahme nach der Infektion 29. Juni 10 h. a. m.

Tabelle 7.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	Kontrolle
43	+	+	+	±	—	—	—	—
44	+	+	+	+	—	—	—	—
45	+	+	+	+	+	—	—	—
47	+	+	+	+	±	—	—	—
49	+	+	+	—	—	—	—	—
50	+	+	+	—	—	—	—	—
51	+	+	+	±	—	—	—	—
161	+	+	+	—	—	—	—	—

3. Blutentnahme nach der Infektion 30. Juni 10 h. a. m.

Tabelle 8.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	Kontrolle
43	+	+	+	+	—	—	—	—
44	+	+	+	+	±	—	—	—
45	+	+	+	+	+	±	—	—
47	+	+	+	+	±	—	—	—
49	+	+	+	±	—	—	—	—
50	+	+	+	±	—	—	—	—
51	+	+	+	—	—	—	—	—
161	+	+	+	—	—	—	—	—

## 4. Blutentnahme nach der Infektion 1. Juli 10 h. a. m.

Tabelle 9.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	Kontrolle
43	+	+	+	+	+	—	—	—
44	+	+	+	+	+	±	—	—
45	+	+	+	+	+	±	—	—
47	+	+	+	+	+	±	—	—
49	+	+	+	±	—	—	—	—
50	+	+	+	±	—	—	—	—
51	+	+	+	±	—	—	—	—
161	+	+	+	±	—	—	—	—

## 5. Blutentnahme nach der Infektion 3. Juli 10 h. a. m.

Tabelle 10.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	Kontrolle
43	+	+	+	+	+	—	—	—	—
44	+	+	+	+	+	±	—	—	—
45	+	+	+	+	+	+	+	—	—
47	+	+	+	+	+	+	—	—	—
49	+	+	+	—	—	—	—	—	—
50	+	+	±	—	—	—	—	—	—
51	+	+	+	—	—	—	—	—	—
161	+	+	±	—	—	—	—	—	—

## 6. Blutentnahme nach der Infektion 5. Juli 10 h. a. m.

Tabelle 11.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	Kontrolle
43	+	+	+	+	+	—	—	—	—
44	+	+	+	+	+	±	—	—	—
45	+	+	+	+	+	+	±	—	—
47	+	+	+	+	+	±	—	—	—
49	+	+	+	—	—	—	—	—	—
50	+	+	+	±	—	—	—	—	—
51	+	+	+	—	—	—	—	—	—
161	+	+	+	±	—	—	—	—	—

## 7. Blutentnahme nach der Infektion 7. Juli 10 h. a. m.

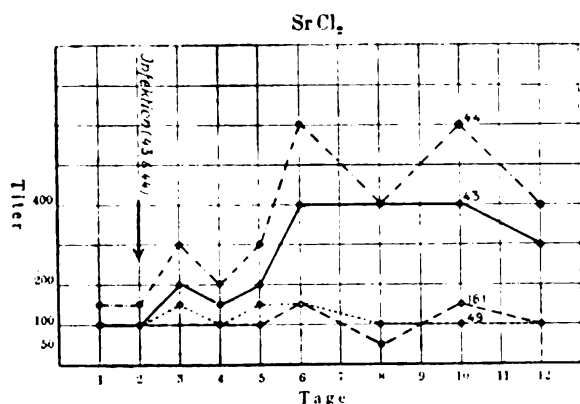
Tabelle 12.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1600$	$1/3200$	Kontrolle
43	+	+	+	+	+	—	—	—	—
44	+	+	+	+	+	±	—	—	—
45	+	+	+	+	+	±	—	—	—
47	+	+	+	+	+	—	—	—	—
49	+	+	+	—	—	—	—	—	—
50	+	+	+	—	—	—	—	—	—
51	+	+	+	—	—	—	—	—	—
161	+	+	+	—	—	—	—	—	—

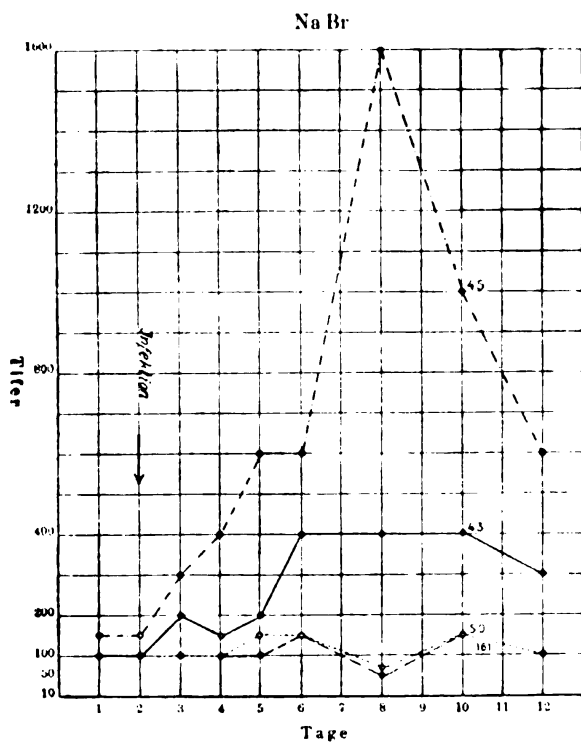
Die folgenden Tabellen zeigen die zu dieser Versuchsserie gehörenden Agglutinin-kurven.

Die Agglutinincurve des mit  $\text{SrCl}_2$  behandelten Tieres zeichnet sich aus durch 2 Maxima, ferner dadurch, daß sie, wie diejenige des infizierten,

aber nicht behandelten Tieres, unmittelbar nach der Infektion einen kleinen Anstieg mit nachfolgendem Sinken erfährt, um erst dann die



Kurven 2.



Kurven 3.

nat und das m-Kresol, welche beide deutlich phagocytosebefördernd befunden wurden:

1. Blutentnahme zur Titerbestimmung des Normalserums 22. Juli 9 h. a. m.

Tabelle 13.

Tier No.	$1/10$	$1/20$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	Kontrolle
53	+	+	+	+	—	—	—
55	+	+	+	+	—	—	—
59	+	+	+	+	—	—	—
61	+	+	+	—	—	—	—
58	+	+	+	—	—	—	—
49	+	+	+	±	—	—	—

Akme zu erreichen.  $SrCl_2$  läßt hier, im Gegensatz zu seinem Einfluß auf die Phagocytose, einen leicht begünstigenden Effekt auf die Antikörperproduktion erkennen.

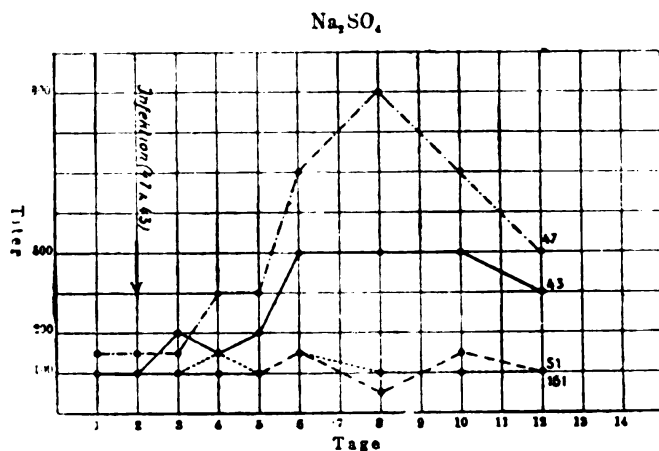
Einen sehr schönen Effekt auf die Agglutininproduktion zeigt das mit NaBr behandelte Tier, indem bei ihm, im Vergleich zum infizierten Kontrolltier, die Agglutininproduktion am 6. Tage nach der Infektion das Vierfache erreicht hat. Vom Punkte der Infektion weg zeigt sich ein rascher, kontinuierlicher Anstieg der Antikörperkurve, welche auf eine sofortige, starke Wirkung des Bromids hindeutet. Dieses wirkt also in doppeltem Sinne; es zeigt eine sehr kräftig phagocytosebefördernde, als auch eine die Agglutininproduktion stark steigernde Fähigkeit.

Auch das  $Na_2SO_4$  zeigt beim Tier No. 47 eine merkbare Beeinflussung der Agglutininproduktion in günstigem Sinne. Auch hier ist das Maximum der Agglutinincurve am 6. Tage nach der Infektion erreicht.

Für die nächste Versuchsserie wurden 2 Substanzen gewählt; das Na-Propio-

Am 22. Juli 5 h. p. m. wurden infiziert die Tiere No. 53, 55 und 58.  
No. 59 und 53 erhielten intravenös je 2 ccm einer 0,5-proz. m-Kresollösung;  
No. 55 und 61 je 2 ccm einer 1-proz. Na-Propionatlösung. Salzkontrolltiere sind demnach No. 59 und 61.

No. 49, das weder infiziert, noch behandelt wurde, zeigt die Schwankungen des Normalserums während der Versuchsdauer,



Kurven 4.

No. 58 ist das infizierte Kontrolltier,  
No. 53 zeigt den Einfluß des m-Kresols und  
No. 55 denjenigen des Na-Propionats auf die Infektion.

2. Blutentnahme 24. Juli 9 h. a. m.

Tabelle 14.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	$1/1600$	Kontrolle
53	+	+	+	+	—	—	—	—	—
55	+	+	+	+	+	—	—	—	—
59	+	+	+	+	—	—	—	—	—
61	+	+	+	—	—	—	—	—	—
58	+	+	+	±	—	—	—	—	—
49	+	+	+	+	±	—	—	—	—

3. Blutentnahme 26. Juli 9 h. a. m.

Tabelle 15.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	$1/1600$	Kontrolle
53	+	+	+	+	+	+	±	—	—
55	+	+	+	+	+	+	—	—	—
58	+	+	+	+	+	—	—	—	—
59	+	+	+	±	—	—	—	—	—
61	+	+	+	±	—	—	—	—	—
49	+	+	+	±	—	—	—	—	—

## 4. Blutentnahme 28. Juli 9 h. a. m.

Tabelle 16.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	$1/1600$	Kontrolle
53	+	+	+	+	+	+	+	—	—
55	+	+	+	+	+	+	+	+	—
58	+	+	+	+	+	+	—	—	—
59	+	+	+	+	—	—	—	—	—
61	+	+	+	+	—	—	—	—	—
49	+	+	+	+	±	—	—	—	—

## 5. Blutentnahme am 29. Juli 9 h. a. m.

Tabelle 17.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	$1/1600$	Kontrolle
53	+	+	+	+	+	+	+	±	—
55	+	+	+	+	+	+	±	—	—
58	+	+	+	+	+	—	—	—	—
59	+	+	+	+	—	—	—	—	—
61	+	+	+	±	—	—	—	—	—
49	+	+	+	±	—	—	—	—	—

## 6. Blutentnahme 31. Juli 9 h. a. m.

Tabelle 18.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	$1/1600$	Kontrolle
53	+	+	+	+	+	±	—	—	—
55	+	+	+	+	+	+	—	—	—
58	+	+	+	+	+	—	—	—	—
59	+	+	+	±	—	—	—	—	—
61	+	+	+	±	—	—	—	—	—
49	+	+	+	+	—	—	—	—	—

## 7. Blutentnahme 3. August 9 h. a. m.

Tabelle 19.

Tier No.	$1/10$	$1/50$	$1/100$	$1/200$	$1/400$	$1/800$	$1/1200$	$1/1600$	Kontrolle
53	+	+	+	+	+	—	—	—	—
55	+	+	+	+	+	—	—	—	—
58	+	+	+	+	±	—	—	—	—
59	+	+	+	±	—	—	—	—	—
61	+	+	+	±	±	—	—	—	—
49	+	+	+	±	—	—	—	—	—

Nachstehend sind die Agglutininschwankungen der mit den betreffenden Substanzen behandelten Tiere mit den zugehörigen Kontrollen kurvenmäßig wiedergegeben:

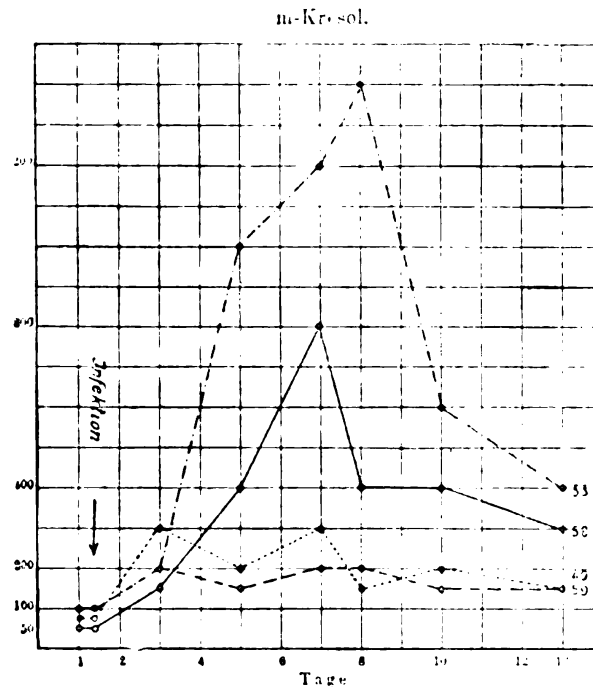
Die Agglutininkurve des m-Kresols steigt in der ersten Phase zunächst langsam und parallel mit der Kurve des infizierten und unbehandelten Tieres, nachher etwas rascher an, und erreicht am 7. Tage nach der Infektion die Akme, während die Kurve des Tieres No. 58 ihr Maximum am 6. Tage schon erreicht hat. Auf die Akme folgt ein rasches Sinken der Kurve. Relativ starke Schwankungen in der Normal-

agglutininkurve zeigt das Kontrolltier No. 49, während die Kurve des Kontrolltieres No. 59, dem Kresol allein appliziert worden war, die Titergrenze 1:200 nicht überschreitet. Nach dem Versuch hat also auch das m-Kresol einen merklich günstigen Einfluß auf die Produktion der Agglutinine ausgeübt.

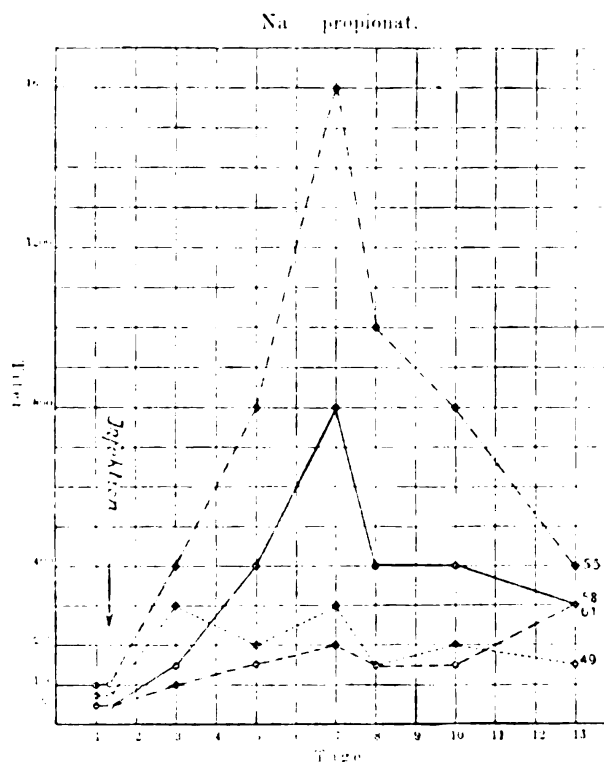
An dieser Stelle ist es vielleicht angebracht, auf die günstige Wirkung der Phenolinjektionen bei infektiösem Abortus hinzuweisen, die auf der hiesigen ambulatorischen Klinik von Prof. Rusterholz konstatiert wurden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die günstige Wirkung des Phenols, das chemisch dem m-Kresol nahesteht, zum Teil wenigstens auf eine Erhöhung der Agglutininproduktion bei den behandelten Tieren zurückzuführen ist.

Eine noch etwas überlegene Wirkung hat das Na-Propionat, wie obige Kurve des Tieres No. 55 zeigt, indem es die Antikörperproduktion verdoppelt. Die Wirkung tritt rasch zutage, indem sich sofort nach der Infektion ein rascher und kontinuierlicher Anstieg der Agglutininkurve geltend macht, die am 6. Tage nach der Infektion, also gleichzeitig mit derjenigen des infizierten Kontrolltieres No. 58, ihre Akme erreicht und dann zuerst rasch und nachher allmählicher wieder fällt.

Auffällig ist der Anstieg der Normalagglutinin-kurve der beiden Kontrolltiere, namentlich der allmähliche Anstieg derjenigen des Tieres No. 49, was vielleicht auf die wiederholten Aderlässe zurückzuführen sein könnte, denn Friedberger



Kurven 5.



Kurven 6.



und Dorner haben gezeigt, daß mehrmalige, nicht zu profuse Aderlässe eine Vermehrung der Blutantikörper zur Folge haben.

Die letzte von uns auf ihren Einfluß auf die Agglutininproduktion untersuchte Substanz ist das Cymol. Die Wirkung desselben wird in folgender Versuchsserie demonstriert:

Die Normaltiter bzw. die Normalschwankungen des Normaltiters wurden in 2 Versuchen eruiert.

1. Blutentzug 10. Juni 9 h. a. m.

Tabelle 20.

Tier No.	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	Kontrolle
102	+	+	+	+	±	—	—
103	+	+	+	+	—	—	—
104	+	+	+	+	±	—	—
105	+	+	+	+	±	—	—

2. Blutentzug 13. Juni 9 h. a. m.

Tabelle 21.

Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1200}$	Kontrolle
102	+	+	+	+	—	—	—	—	—
103	+	+	+	+	±	—	—	—	—
104	+	+	+	—	—	—	—	—	—
105	+	+	+	±	—	—	—	—	—

Am 14. Juni 10 h. a. m. wurden die Tiere No. 104 und 105 infiziert und No. 103 und 105 mit je 1 ccm der Lösung 1:5000 von Cymol intravenös gespritzt, so daß No. 102 als Kontrolltier die Schwankungen des Normaltiters angibt, No. 103 die Titterschwankungen des mit Cymol allein behandelten Organismus, No. 104 den Verlauf der Agglutininproduktion des infizierten Tieres und No. 105 den Einfluß des Cymols auf die Infektion zeigt.

3. Blutentnahme 14. Juni 4 h. p. m.

Tabelle 22.

Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1200}$	Kontrolle
102	+	+	+	+	—	—	—	—	—
103	+	+	+	+	+	—	—	—	—
104	+	+	+	+	±	—	—	—	—
105	+	+	+	+	±	—	—	—	—

4. Blutentnahme 16. Juni 9 h. a. m.

Tabelle 23.

Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1200}$	Kontrolle
102	+	+	+	+	±	—	—	—	—
103	+	+	+	+	+	±	—	—	—
104	+	+	+	+	+	±	—	—	—
105	+	+	+	+	+	+	+	—	—

5. Blutentnahme 19. Juni 3 h. p. m.

Tabelle 24.

Tier No.	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{1200}$	Kontrolle
102	+	+	+	+	±	—	—	—	—
103	+	+	+	+	+	—	—	—	—
104	+	+	+	+	+	+	±	—	—
105	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Graphisch dargestellt, ergeben die Agglutininchwankungen dieser Versuchsserie folgende Kurven:

Es zeigt sich, daß auf die Infektion sofort ein starker Anstieg der Agglutinincurve des infizierten Cymoltieres sich geltend macht, so daß

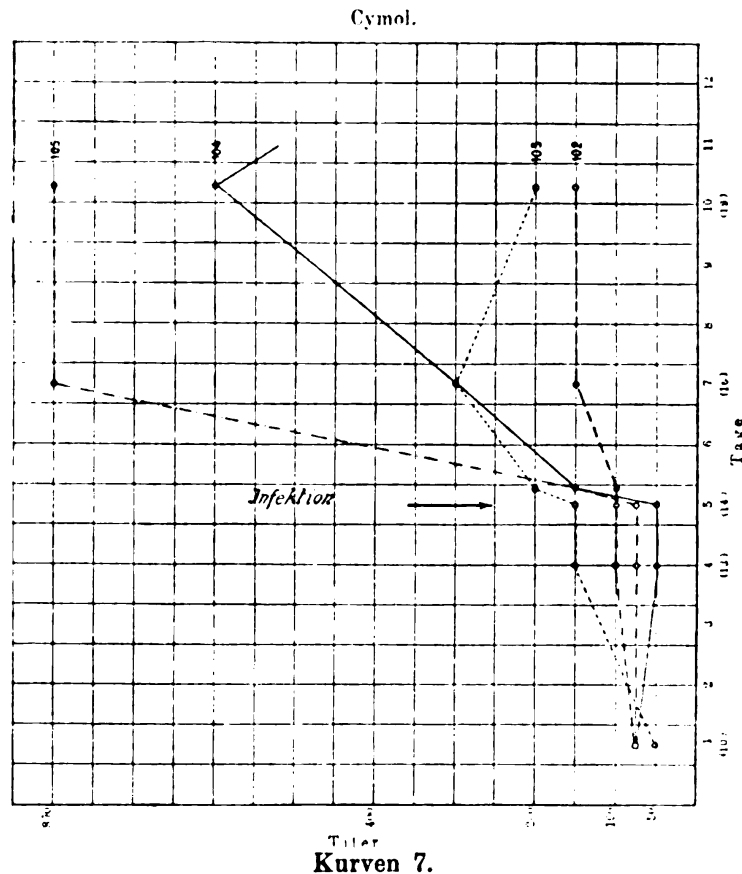
die Kurve schon am 2. Tage nach der Infektion ihr Maximum erreicht und einige Zeit in diesem verharret, während die Kurve des infizierten Kontrolltieres ihr Maximum erst am 5. Tage erreicht hat. Indessen scheint das Cymol auch auf die Normalagglutinine nicht ohne Einfluß zu sein, wie die Kurve des Tieres No. 103 zeigt.

Es geht aus diesem Versuch hervor, daß das Cymol auf die Produktion der Agglutinine, namentlich in deren ersten Phase, weniger eine stark erhöhende als eine die Mobilisation derselben stark beschleunigende Wirkung ausübt. Wir haben bereits anläßlich des Einflusses der Terpene auf die Phagocytose auf die ausgedehnte Anwendung und den günstigen Erfolg

des Terpentins in der Praxis hingewiesen. In der gynäkologischen Klinik in Lyon wird das Terpentin mit Erfolg gegen das Puerperalfieber angewendet; schon erwähnt haben wir die Therapie durch Fixationsabszesse bei der krupösen Pneumonie der Pferde. Der günstige Einfluß von Terpentindämpfen bei Affektionen der Atmungsorgane ist allgemein bekannt. Man hat die günstige Wirkung des Terpentins auf seine Fähigkeit zurückgeführt, die Leukocytose und namentlich die Phagocytose anzuregen.

Wester<sup>1)</sup>, der eine cardiotonische Wirkung des Terpentins nachwies, hat den günstigen Einfluß desselben auf eine Förderung der Herzwirkung zurückgeführt. Nach dem letzten Versuch glauben wir berechtigt zu sein, die günstige Wirkung des Terpentins, das mit dem Cymol nahe verwandt ist, zum Teil wenigstens, auch auf eine Erhöhung und namentlich auf die Mobilisation der Agglutinine beschleunigende Wirkung zurückführen zu dürfen.

Die Resultate der Agglutininbeeinflussung haben eine gewisse Ähnlichkeit mit der Begünstigung der Phagocytose, indem diejenigen Substanzen, welche die Phagocytose am stärksten begünstigen, auch die Agglutininproduktion am meisten stimulieren, nämlich NaBr, Na-Propionat, Cymol und  $\text{CaCl}_2$ . Die beiden anderen Salze hingegen,  $\text{SrCl}_2$  und  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , welche die Phagocytose nicht begünstigen, sondern sogar



Kurven 7.

1) Wester, Nederl. Tijdschr. v. Veeartsenyk. Bd. 38. 1911. S. 575.

hemmen, haben einen geringen, aber doch noch begünstigenden Effekt auf die Agglutininproduktion.

An diesen Salzversuchen ist noch folgendes auffällig: Das Maximum der Agglutininproduktion wird durch die Salzzufuhr offensichtlich nicht verschoben ( $\text{SrCl}_2$  ausgenommen), — anders beim Cymol —; Salze veranlassen also keine Beschleunigung der Antikörperbildung, deshalb ist es auffällig, daß bei den mit Salz behandelten Tieren das Maximum des Agglutinititers erst 6 Tage nach der Salzapplikation beobachtet wird. Zur Erklärung dieses Phänomens müssen wir annehmen, entweder, daß die Salze, bzw. ein gewisser geringer Anteil derselben in den Zellen zurückgehalten werde und dort beständig eine gewisse Wirkung ausübe, oder daß durch die Salzapplikation die Zellen bleibend irreversibel derart geändert werden, daß sie in erhöhtem Maße die Fähigkeit der Antikörperproduktion beibehalten (Reiznachwirkung). Es wird wohl bei verschiedenen Substanzen bald die eine, bald die andere Möglichkeit realisiert sein. Vom Brom z. B. ist bekannt, daß es lange Zeit im Organismus zurückgehalten werden kann. Mit Bezug auf die anderen von uns verwendeten Substanzen sind uns diesbezügliche Untersuchungen nicht bekannt.

Wir haben durch diese Versuche eine Anzahl von Substanzen kennen gelernt, welche imstande sind, den Organismus zur erhöhten Agglutininproduktion anzuregen. Ob auch die Produktion anderer Antikörper, z. B. der Bakterizidine (Ambozeptoren und Komplemente) der Opsonine und Tropine und der Antitoxine gesteigert werden kann, muß durch besondere Versuche noch festgestellt werden. Wenn auch diese Substanzen in den von uns verwendeten Konzentrationen diesen Effekt ausüben, so ist damit nicht gesagt, daß durch Steigerung der Dosis auch der Effekt bis ins Unbegrenzte erhöht werden kann. Es ist vielmehr anzunehmen, daß die günstige Wirkung einmal bei weiterer Dosissteigerung aufhören wird, und daß schließlich bei toxischen Dosen eine Verminderung der Antikörperproduktion zutage tritt. Im übrigen ist nicht gesagt, daß die klinisch toxische Dosis gleichzeitig auch die für die Antikörperproduktion schädigende sein müsse.

An den Versuchen ist weiterhin auffällig, daß die Hochtreibung des Agglutinititers durch die verwendete Substanz bei den infizierten Tieren in allen Fällen absolut und in den meisten Fällen auch relativ größer ist als bei nicht infizierten Tieren. Das bedeutet, daß der durch Bakteriengifte beeinflusste Organismus auf das Medikament stärker reagiert, oder mit anderen Worten gegenüber dem Medikament eine höhere Empfindlichkeit aufweist. Wir können das Phänomen auch noch anders formulieren. Im Organismus sind 2 Substanzen, die auf die Antikörperproduktion einwirken, die eine ist das Medikament, die andere das Bakteriengift. Nun ist die Wirkung einer Kombination dieser beiden Substanzgruppen größer als die Summe der Einzelwirkungen, d. h. es findet eine gegenseitige Verstärkung statt. Wir haben also hier ein neues Beispiel der Wirkung von Giftkombinationen im Organismus vor uns. Von dieser Tatsache läßt sich vielleicht praktisch Gebrauch machen. Einerseits bei der Herstellung von Immunseren, andererseits bei der aktiven Immunisierung in der Praxis. Sollten dieselben Substanzen auch die Produktion anderer Antikörper anregen und sollten sie begünstigend wirken beim Zustandekommen der zellulären aktiven Immunität, so würde bei der praktischen aktiven Immunisierung eine Verwendung dieser Substanzen in Gemeinschaft mit dem applizierten Antigen zweckmäßig sein.

Fassen wir die Antikörperproduktion als eine Sekretion auf, deren vielleicht sämtliche Körperzellen fähig sind, so würde die Wirkung der hier untersuchten Substanzen eine Begünstigung dieser Sekretion sein, und es fragt sich nun, ob die sezernierten Antikörper ad hoc in der Zelle aus Zellbestandteilen gebildet werden, oder ob sie, bereits vorgebildet, nur auf die Abgabe warten. In jedem Falle müssen wir annehmen, daß diejenige Substanz, die entweder die Bildung, oder die Abgabe der Antikörper, oder beide Prozesse anregt, in die Zellen hineingehen muß. Es kommt demnach als trennender, verbindender und regulierender Faktor die Zellmembran in Frage. Infolgedessen müssen alle Faktoren, welche die Zellmembran verändern, die Abgabe von Antikörpern beeinflussen. Wir können also die Wirkung der untersuchten Substanzen auf den Antikörpergehalt des Blutes definieren als eine Wirkung auf die Membran der Ursprungszellen der Antikörper. Die Wirkung dieser Substanzen auf die Sekretion von Antikörpern steht nicht vereinzelt da; es ist bekannt, daß viele Salze die Sekretion von Drüsenzellen anregen können. Da nun ein gewisser Parallelismus besteht zwischen der Phagocytosebegünstigung und der Stimulierung der Antikörperproduktion, und da wir den ersten Prozeß auf Erniedrigung der Oberflächenspannung zurückgeführt haben und vorderhand die Antikörperproduktion als Sekretion und die Begünstigung derselben als Permeabilisierung der Zellmembran auffassen wollen, so müßte diese Permeabilisierung einhergehen mit einer Erniedrigung der Oberflächenspannung der Zellen, oder umgekehrt gesagt, die Permeabilität der Zellwand wird erhöht durch Erniedrigung der Oberflächenspannung. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Zehnjährige Erfahrungen mit „Ratin“<sup>1)</sup>.

Von **L. Bahr**, Tierarzt, Laboratoriumsvorsteher, Kopenhagen.

Mit 1 Kurve im Text.

Unter Bezugnahme auf eine Notiz im Königl. Preuß. Ministerialblatt für Medizinalangelegenheiten. Jahrg. 17. No. 9 v. 28. Febr. 1917, betreffend die Verwendung von bakterienhaltigen Rattenvertilgungsmitteln, nehme ich Veranlassung, folgendes mitzuteilen:

Die rationelle Vertilgung der in ökonomischer und sanitärer Beziehung im hohen Grade schädlichen Wanderratten ist eine überaus wichtige Sache.

Während einer längeren Reihe von Jahren hat das sogenannte Ratinssystem zur Bekämpfung der Rattenplage, besonders in Europa, mit Erfolg Anwendung gefunden. Ich will hier nicht näher auf dieses System eingehen<sup>2)</sup>, sondern möchte nur über die Verwendung der Bakterienkultur „Ratin“ und das bakterienfreie Ergänzungspräparat (Meerzwiebelpräparat) „Ratinin“, die 2 Glieder des Ratin-systems, folgendes erwähnen:

Zuerst wird die Bakterienkultur „Ratin“ an den von Ratten heimgesuchten Stellen ausgelegt, wodurch nach Aufnahme eine Infektions-

1) Mitt. v. Bakteriolog. Laborat. Ratin. Kopenhagen 1917.

2) Näheres hierüber siehe: Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. S. 443 bis 455.

krankheit unter den Ratten hervorgerufen wird. Man kann damit rechnen, daß die empfänglichen Ratten im Laufe von etwa 14 Tagen infolge dieser Krankheit sterben. Falls nach dieser Zeit an den betreffenden Stellen noch Ratten vorkommen, muß das Auslegen von „Ratinin“ sofort vorgenommen werden, um die für die Ratinbakterien unempfänglichen Ratten zu töten.

Nachstehend sollen einige Erfahrungen über 10-jähr. Laboratorienversuche mit graubraunen Wanderratten und, als Ergänzung hierzu, die Resultate einer Reihe von Vertilgungen von Ratten im Großen in größeren und kleineren Provinzstädten mit obengenannten Präparaten wiedergegeben werden:

Was die Laboratorienversuche anbetrifft, so beziehen diese sich auf das Virulenzverhältnis des Ratinbacillus gegenüber wilden, graubraunen Wanderratten (*Mus decumanus*), und zwar ausschließlich auf Fütterungsversuche, die in dem Ratinlaboratorium zu Kopenhagen 1907—1917<sup>1)</sup>, also im Laufe von 10 Jahren, angestellt worden sind.

Zu diesen Versuchen sind im ganzen während dieser Periode 5926 graubraune Ratten verwendet worden, die hauptsächlich in Kopenhagen und dessen nächster Umgebung eingefangen wurden. Zur Herbeischaffung dieser Versuchstiere hat das Laboratorium ein Rattendepot errichtet, welches die Ratten täglich von verschiedenen Stellen ankauft. Hier verbleiben die Ratten einige Zeit, um Sicherheit zu geben, daß diejenigen, die den Versuchen dienen sollen, gesund sind. Erst dann werden sie zur weiteren Verwendung freigegeben. Während der Beobachtungszeit (im Rattendepot), sowie auch während der Versuche, besteht das Futter der Ratten hauptsächlich aus Roggenbrot, welches sich als das geeignetste Futter für eingesperrte Ratten gezeigt hat. Ferner stand den Ratten reichlich Wasser zur Verfügung. Für einen passenden Wärmegrad und Ventilation wurde gesorgt.

Die Ratten wurden in festen Käfigen gehalten, welche so eingerichtet waren, daß der Urin weglaufen konnte und die Tiere somit immer im Trocknen saßen. In jedem Käfig, welcher eine Länge von 36 cm, eine Breite von 31 cm und eine Höhe von 19 cm hat, waren in der Regel 2 Ratten eingesperrt, und zwar vorzugsweise in demselben Käfig solche, die am gleichen Aufenthaltsorte eingefangen waren, da die Ratten geneigt sind, sich zu bekämpfen. Man kann häufig beobachten, daß die schwachen an den Bissen der stärkeren nach einigen Tagen (oft schon nach 24 Stunden) zugrunde gehen.

In der Regel wurden 18—24 Stunden alte Ratinbouillonkulturen verwendet, wovon jede Ratte etwa 15 g, in Weißbrot eingeweicht, bekam. Die empfänglichen Tiere starben in der Regel nach 8—14 Tagen, selten früher (2—6 Tage) oder später (3 Wochen). Die getöteten Tiere wurden danach seziert und bakteriologisch auf Ratin untersucht. In der Regel wurden Stichkulturen aus dem Herzblut und der Milz angelegt. Die gewonnenen Kulturen wurden danach genau untersucht, auch betreffs ihres Gärungsverhaltens gegenüber Glykose, Laktose, Saccharose, Maltose, Arabinose, Xylose, Sorbose, Rhamnose und Dulzit nebst Adonit. Im ganzen sind mit 1199 dieser Kulturen Infektionsversuche an graubraunen Ratten angestellt worden. Zu jedem Versuche wurden 4—10 Ratten verwendet.

Die Resultate dieser Untersuchungen gehen aus untenstehendem Schema I hervor:

1) Das Jahr läuft vom 1. April bis 31. März.

**Schema I (1907—1917).**

Jahr	Zahl der mit Rati- nkulturen gefütterten Ratten	Zahl der an Rati- nfektion gestor- benen Ratten	Zahl der die Rati- nfektion über- lebenden Ratten	Durchschnittliche Sterblichkeitsproz.	100 % Sterblichkeit	90 % Sterblichkeit	80 % Sterblichkeit	75 % Sterblichkeit	70 % Sterblichkeit	ca. 60—60 % Sterblichkeit	50 % Sterblichkeit	ca. 40—30 % Sterblichkeit	ca. 25—15 % Sterblichkeit	ca. 10 % Sterblichkeit	0 % Sterblichkeit	Zahl der Ratnkult., welche z. d. Versuch. verwendet wurden
1907—1908	525	282	243	53,3	20	2	3	21	3	3	21	5	17	—	21	116
1908—1909	616	437	179	70,9	29	—	23	6	1	17	17	4	5	1	4	107
1909—1910	842	480	362	57,0	13	2	21	9	3	16	35	16	15	3	2	135
1910—1911	605	328	277	54,2	7	—	7	10	1	18	15	10	9	2	9	88
1911—1912	733	413	320	56,3	45	—	9	11	—	10	22	7	20	2	20	146
1912—1913	539	375	164	69,5	44	1	7	20	—	6	18	4	8	—	8	116
1913—1914	536	348	188	64,9	35	—	8	18	—	4	21	8	15	—	4	113
1914—1915	626	382	244	61,0	36	2	2	41	—	2	34	3	22	—	7	149
1915—1916	512	366	146	71,5	47	—	—	42	—	—	22	2	8	—	8	129
1916—1917	392	288	104	73,4	36	—	—	26	—	3	25	4	5	—	1	100
1907—1917	5926	3699	2227	62,4	312	7	80	204	8	79	230	63	124	8	84	1199

Hieraus geht hervor, daß der durchschnittliche Virulenzgrad der Kulturen wie folgt war:

312	Kulturen	—	Sterblichkeitsprozente:	100
7	"		"	90
80	"		"	80
204	"		"	75
8	"		"	70
79	"		"	60—66
230	"		"	50
63	"		"	30—40
124	"		"	15—25
8	"		"	10
84	"		"	0

Zur Herstellung der 1907—1917 von dem Laboratorium abgegebenen Kulturen sind folgende „Ratinstammkulturen“ verwendet worden:

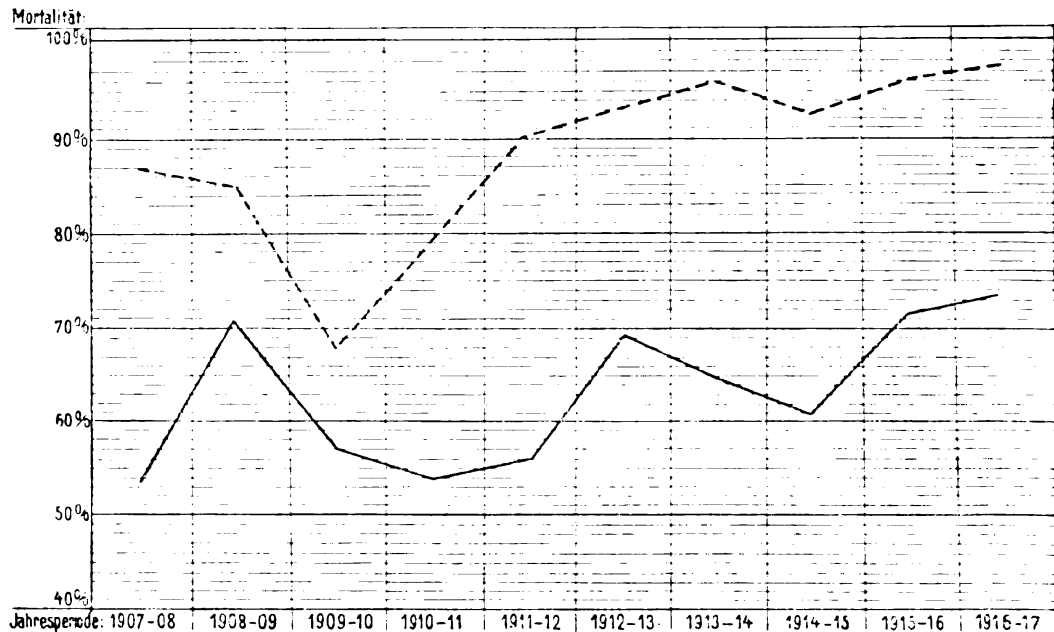
**Schema II.**

Jahr	Anzahl der benutzten Ratinstammkulturen	Durchschnittlicher Virulenz- grad der Kulturen graubraunen Ratten gegenüber (per os)
1907—08	38	87 Proz.
1908—09	35	85 "
1909—10	22	68 "
1910—11	22	79,1 "
1911—12	30	90 "
1912—13	32	93 "
1913—14	26	96 "
1914—15	29	92,7 "
1915—16	39	96,1 "
1916—17	32	97,6 "

Im ganzen wurden also 1907—17 305 Ratinstammkulturen mit obengenannten (s. Schema II) durchschnittlichen Virulenzgraden zur Herstellung von Ratin verwendet. Zu jedem dieser 305 Fütterungsversuche wurden ebenfalls 4—10 Ratten verwendet.

Wird der durchschnittliche Virulenzgrad (in Prozenten) der in Schema I und II angeführten Kulturen graphisch wiedergegeben, so

bilden sich folgende Kurven (s. unten), wenn die Sterblichkeitsprozente der Ordinatenachse und die Jahresperioden der Abszissenachse entlang abgesetzt werden. Die gestrichelte Kurve bedeutet Virulenzgrad der zur Herstellung des Ratins benutzten Kulturen, während die schwarze Kurve den durchschnittlichen Virulenzgrad aller in derselben Periode untersuchten Kulturen angibt. Es geht aus diesen Kurven hervor, daß der durchschnittliche Virulenzgrad der erstgenannten Kulturen graubraunen Ratten gegenüber bedeutend größer als der letztgenannte ist. Ferner aber sieht man, daß der Virulenzgrad sowohl der erstgenannten, als auch der letztgenannten



Kulturen, abgesehen von kleineren Schwankungen (und mit Ausnahme eines Rückganges im Jahre 1909—10), ein zunehmender ist.

Im Jahre 1916—17 wurde der Höchstpunkt für beide Kulturserien erreicht, nämlich ein Virulenzgrad von bzw. 97,6 und 73,4 Proz. Beide Kurven haben also während der letzten Jahre eine steigende Tendenz, d. h. der Virulenzgrad der Ratinkulturen ist höher geworden.

Von Interesse ist ferner der Umstand, daß das Gärungsverhalten des Ratinbacillus den genannten Stoffen gegenüber genau dasselbe ist, wie im Jahre 1905, als ich meine ersten Untersuchungen mit dieser Kultur veröffentlichte (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39), und zwar trotz der Passage durch Hunderte von Rattengenerationen<sup>1)</sup>.

Was das Meerzwiebelpräparat „Ratinin“ anbetrifft, so gehen meine Erfahrungen dahin, was ja übrigens nicht unbekannt ist, daß der Giftgehalt der Meerzwiebeln sehr verschieden ist. Es besteht ein bedeutender Unterschied zwischen weißen und roten Meerzwiebeln; übrigens hat aber das Laboratorium ganz weiße, mehr oder weniger gestreifte und mehr oder weniger rote Meerzwiebeln und Extrakte von Meerzwiebeln zur Untersuchung gehabt, die einen im hohen Grade variierenden Giftgehalt hatten. Zur Herstellung eines völlig geeigneten

1) Während der letzten Jahre ist der, übrigens ganz unwesentliche, Unterschied bemerkt worden, daß Xylose und Maltose oft nur unter Säurebildung gespalten werden, während früher, außer Säure, auch eine ganz geringe Menge Luft (eine kleine Luftblase) in der Xylosebouillon und der Maltosebouillon produziert wurde.

Meerzwiebelpräparates müssen daher gute, frische Meerzwiebeln zur Verfügung stehen, da es sonst unsicher oder verhältnismäßig schwach wirkend ausfallen könnte, und dann nur eine geringe Prozentzahl der Ratten sterben würde, da der Hauptteil des Rattenbestandes eine zu schwache Menge bekäme, und deshalb die Wirkung des Meerzwiebelgiftes ausbleibt. Es hat sich gezeigt, daß solche Ratten mehr oder weniger giftfest waren, indem sie sich, wie es z. B. mit Morphinum der Fall ist, an das Gift gewöhnen können und ohne Schaden sehr große Mengen davon vertragen. Es ist nicht nur notwendig, geeignete Meerzwiebeln zur Verfügung zu haben, sondern es gilt auch, hiervon einen genügend starken Giftextrakt herzustellen und das Präparat in einer haltbaren und leckeren Form zu bringen, so daß die Ratten es gern fressen.

Das von unserem Laboratorium unter dem Namen „Ratinin“ hergestellte Meerzwiebelpräparat wird von den Ratten gern aufgenommen. Durch Versuche hat es sich ca. 1 Jahr unverändert haltbar erwiesen (selbst bei 37° C). Die Giftstärke wird durch Fütterungsversuche geprüft. Es hat sich jedoch herausgestellt, daß einzelne Ratten eine große Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Meerzwiebelgift besitzen; möglicherweise handelt es sich in einzelnen dieser Fälle um „giftfeste“ Individuen.

Was die obenerwähnten Fütterungsversuche mit dem Meerzwiebelgift anbetrifft, so sind z. B. während der 5 Jahre 1912–17 im ganzen 549 Versuche an 1117 graubraunen Ratten angestellt worden. Hiervon starben 1020 Ratten (= 91,3 Proz.) infolge der Giftwirkung im Laufe von 1–2 Tagen, während 97 Ratten (= 8,7 Proz.) am Leben blieben.

Die Einzelheiten dieser Versuche gehen aus untenstehendem Schema III hervor:

Schema III.

Jahr	Anzahl der gefütterten Ratten	Anzahl der getöteten Ratten	Anzahl der überlebenden Ratten	Anzahl der Versuche	Prozent der getöteten Ratten
1912–13	274	242	32	137	88,3
1913–14	268	243	25	106	90,7
1914–15	251	231	20	134	92,0
1915–16	187	175	12	94	93,6
1916–17	137	129	8	78	94,2
1912–17	1117	1020	97	549	91,3

An den Stellen, an denen nur wenige Ratten vorhanden sind, und mithin anzunehmen ist, daß alle Nager im Laufe einer Nacht eine genügend große Dosis von dem Meerzwiebelpräparat (Ratinin) erhalten, wird es zweckmäßig sein, nur eine Auslegung dieses Präparates vorzunehmen. Handelt es sich dagegen um die Vertilgung der Ratten an größeren und stark von Ratten heimgesuchten Stellen (Gemeinden, Inseln, Städten etc.), so ist es, nach meinen Erfahrungen, notwendig, zuerst eine Auslegung von Ratin (nach dem Ratinsystem) vorzunehmen, denn nur in diesem Falle wird man eine Totalvertilgung der Ratten erreichen können, bzw. auf diese Weise einer vollständigen Vertilgung der Ratten so nahe wie möglich kommen, was ja das Ziel ist.

Was die Wirkung der im Laboratorium hergestellten Präparate anbetrifft, so sind unter anderem während der Jahre 1907–10 mit dänischen Staatsmitteln mehrere umfassende Versuche in stark rattengeplagten Orten, Gemeinden und Inseln angestellt worden. Die diesbezüglichen



Berichte zeigen ein völlig zufriedenstellendes Resultat<sup>1)</sup>. Ueber die Verteilung in rattengeplagten Städten gebe ich nachstehend beispielsweise die Ergebnisse, die mittels des Ratin-Systems in den Städten Vejle, Ribe, Helsingör, Frederikshavn, Randers, Næstved und Aalborg erreicht worden sind. Die Berichte über die in diesen Städten erzielten Resultate sind nach Abschluß der Rattenverteilungen dem dänischen Ministerium übersandt und von den verschiedenen Städten veröffentlicht worden. Diese Berichte der lokalen „Rattenvereine“ nebst ergänzenden Mitteilungen von den Inspektoren des Verkaufsbureau der Ratingesellschaft, welche die Auslegungen geleitet haben, bilden die Grundlage für folgendes:

Schema IV.

Stadt	Jahr	Anzahl der Grundstücke im ganzen	Anzahl der rattengeplagten Grundstücke vor der Ratin-auslegung	Prozent der rattengeplagten Grundstücke vor der Ratin-auslegung	Anzahl der rattengeplagten Grundstücke nach der Ratin-auslegung	Prozent der rattengeplagten Grundstücke nach der Ratin-auslegung
Vejle	1908	1600	1227	ca. 76	1908 Herbst	ca. 91,4
	1913				138	„ 97
					1913: 40—50	
Ribe	1908	550	ca. 550	„ 100	1909: 25—30	„ 95
	1914				1914: ca. 30	
Helsingör	1909	ca. 1000	600	„ 60	30—40	„ 96
Frederikshavn	1909	„ 620	380	„ 60	20—30	„ 95
Randers	1910	1600	ca. 800	„ 50	50	„ 97
Næstved	1911	ca. 1100	„ 600	„ 54	1912: ca. 50	„ 98
					1913: „ 24	
Aalborg	1913-	„ 2300	ca. 1289	„ 56	1915: „ 70	„ 97
	1915					

Ohne auf die Einzelheiten der rationellen Verteilung der Ratten in Städten näher einzugehen, sei beispielsweise folgendes angeführt:

Die rationelle Verteilung der Ratten in Aalborg (mit Hasseris Villa-viertel) wurde am 13. Dez. 1913 begonnen. Durch eine vorhergegangene Untersuchung sämtlicher ca. 2300 Grundstücke zeigten sich 1289 hiervon mehr oder weniger von Ratten geplagt. Es wurde nun Ratin an allen in Betracht kommenden Orten ausgelegt und später Ratinin an den Stellen, wo sich noch Ratten zeigten. Das Resultat war, daß die Zahl der von Ratten geplagten Eigentümer nach 6 Monaten auf 187 heruntergegangen war. Diese Zahl wurde während der 2 Jahre, welche die Verteilung dauerte, nicht größer, ausgenommen in den Herbstmonaten, wenn nach der Ernte ein Rattenzulauf erfolgte.

Die Rattenverteilung wurde danach in derselben Weise fortgesetzt. Bei der abschließenden Besichtigung im November 1915 zeigte es sich, daß nur noch etwa 3 Proz. der Eigentümer in der Stadt Ratten hatten.

Zur Verteilung der Ratten in Aalborg wurden im ganzen 1150 l Ratinkulturen und Ratinin verwendet. Zur Zubereitung wurde Weißbrot für 900 Kronen, Zucker und Fische (Zusatz zum Ratinin) für 22 Kronen verbraucht. Im ganzen (für 1 Mann gerechnet) nahm die Verteilung 1450 Arbeitstage in Anspruch. Die Unkosten haben im

1) Berichte 1—3 v. Bakteriolog. Laborat. Ratin (Kopenhagen) betr. der von dem Laboratorium während der Finanzjahre 1907—08, 1908—09 und 1909—10 mit Staatsmitteln unternommenen prakt. Versuche.

ganzen 12750 Kronen betragen, also etwa  $5\frac{1}{2}$  Kronen pro Besitztum, auf alle Eigentümer der Gemeinde verteilt.

In keiner der vorgenannten Städte sind, soweit es möglich war, dies zu konstatieren, Krankheiten oder Todesfälle unter Menschen und Haustieren, trotz Auslegung großer Mengen von Ratinkulturen und Ratinin, im Laufe mehrerer Jahre beobachtet worden<sup>1)</sup>. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ein neuer Dreifarbennährboden zur Typhus-Ruhr-Diagnose.

[Aus dem Bakteriologisch-serologischen Untersuchungsamt Altona, Stadtkrankenhaus (Vorstand: Oberarzt Dr. Zeißler).]

Von Prof. Dr. G. Gaßner-Rostock, zurzeit Altona.

In einer gleichzeitig erscheinenden Arbeit<sup>2)</sup> ist der außerordentliche Wert des Metachromgelbs als bakterienhemmendes Mittel für Typhus-Ruhruntersuchungen dargelegt. Leider stellt Metachromgelb keinen Farbstoff dar, der ähnlich den bekannten Indikatoren durch einen Farbenumschlag eine durch Säure- bzw. Alkalibildung der Coli- oder Typhuskeime bedingte Reaktionsänderung des Nährbodens anzeigt. Zwar enthält die von Lunge<sup>3)</sup> gegebene Zusammenstellung von Farbstoffen den Hinweis, daß Metachromgelb durch Säure rotviolett gefärbt wird; dieser Farbenumschlag tritt jedoch erst bei so hohen Konzentrationen ein, daß er für die geringen aus dem Zuckergehalt des Nährbodens durch Bakterientätigkeit gebildeten Säuremengen nicht in Betracht kommt.

So müssen wir, um Säurebildner von Alkalibildnern zu unterscheiden, Metachromgelb mit anderen Farbstoffen kombinieren. Es ist an anderer Stelle<sup>2)</sup> schon darauf hingewiesen, daß solche Kombinationen möglich sind, aber auch ihre Bedenken haben können. So wirkt Metachromgelb für sich in einer Konzentration von 1 pro mille auf Ruhr Shiga-Kruse durchaus nicht hemmend ein, wohl aber in deutlicher Weise, wenn es mit Lackmuslösung kombiniert, d. h. also, wenn dem üblichen Drigalski-Nährboden<sup>4)</sup> an Stelle von Kristallviolett Metachromgelb zugesetzt wird. Außerdem erhält dieser Nährboden durch den Metachromgelbzusatz eine so ominös braunviolette Farbe, daß das Farbenbild als solches doch recht ungünstig beeinflußt scheint.

Günstiger liegen die Verhältnisse bei einer Kombination des neuerdings vielfach in Aufnahme gekommenen Kongorotnährbodens<sup>5)</sup> mit Metachromgelb. Der Kongorotnährboden bedarf dringend eines Zusatzes, der gerade auch das Wachstum der Kokken und Sporenbildner hemmend beeinflußt; Kristallviolettzusatz aber gibt, wie mir ausführliche Versuche zeigten, und wie auch aus gewissen Beobachtungen von Schmitz<sup>6)</sup> geschlossen werden kann, eine durchaus unzureichende Hemmung. Zusatz von Metachromgelb hat dagegen vollen Erfolg, bedingt allerdings, daß

1) Vgl. auch Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54, 1910. S. 234.

2) Gaßner, G., Metachromgelb als Hemmungsmittel für Kokken und Sporenbildner und seine Verwendbarkeit für Nährböden zur Typhus-Ruhr-Diagnose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. S. 120.)

3) Lunge, G., Chem.-techn. Untersuchungsmethoden. Bd. 3. Berlin 1905. S. 1118.

4) v. Drigalski u. Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902. S. 283.)

5) v. Liebermann, L., u. Acél, J., Neuer gefärbter Nährboden zur scharfen Unterscheidung säurebildender Bakterien von anderen, insbesondere des Coli-Bacillus vom Typhusbacillus. (Deutsch. med. Wochenschr. 1914. S. 2093.)

6) Schmitz, K. E. F., Ein neuer Elektivnährboden für Typhusbazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 306.)

der Farbenkontrast zwischen säure- und alkalibildenden Bakterien in Aufsicht weniger deutlich wird; die Coli-Keime wachsen nicht mehr grauschwarz auf dunklem Grunde, sondern nunmehr graugelbbraun auf dunklem Grunde, so daß sie sich nicht mehr so auffallend wie vorher von den rotwachsenden Typhuskolonien unterscheiden, namentlich, wenn Typhus- und Coli-Kolonien eng benachbart wachsen.

Die Kombination des Metachromgelbs mit dem Kindborgschen Säurefuchsinährboden <sup>1)</sup> ergibt einen zinnoberroten Nährboden, auf dem Coli tiefrot, Typhus und Ruhr gelblich oder gelblichrot wachsen gegenüber rotem bzw. farblosem Wachstum auf Säurefuchsinährboden ohne Metachromgelb. Der Farbumschlag von Rot zu Gelb oder Gelbrot ist natürlich weniger gut als derjenige von Rot zu Weiß, so daß also auch hier der Metachromgelbzusatz nur eine Verbesserung in bezug auf das elektive Prinzip des Nährbodens, dagegen eine gewisse Verschlechterung in bezug auf den Farbumschlag zwischen Säure- und Alkalibildnern darstellt.

So brachten diese Versuche der Kombination des Metachromgelbs mit einigen der bisher zur Nährbodenbereitung angewendeten Farbstoffen kein absolut zufriedenstellendes Ergebnis, und es mußte sich darum handeln, einen neuen Farbstoff ausfindig zu machen, der eine gute Farbkombination mit Metachromgelb ermöglichte. Es mußte naheliegen, diesen Farbstoff unter den blauen Farbstoffen zu suchen; die Kombination des Metachromgelbs mit einem blauen Farbstoff muß einen grünen Nährboden abgeben, auf dem jedes Stärkerwerden der blauen Komponente mit einem Hervortreten des Blau, jedes Schwächerwerden derselben mit einem Umschlag in Gelb beantwortet werden muß.

Wünschenswert ist natürlich die Verwendung eines Farbstoffes mit doppeltem Umschlag, wie ihn als zuerst verwendeter das Säurefuchsin in dem von Kindborg angegebenen Nährboden aufweist: intensiveres Hervortreten der Farbe durch Coli und andere Säurebildner, Aufhellung durch Bakterien der Typhus-Ruhrgruppe. Ein sich genau wie Säurefuchsin verhaltender blauer Farbstoff muß bei Kombination mit Metachromgelb Coli und Säurebildner blau auf grünem Grunde, Typhus und Ruhr gelb auf grünem Grunde erscheinen lassen. Im Hinblick auf das Verhalten des Säurefuchsin wurde der blaue Farbstoff in der chemischen Verwandtschaft dieses Farbstoffes gesucht und nach mannigfachen Vorversuchen Wasserblau 6 B extra P der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation als geeigneter und den gestellten Bedingungen in jeder Weise gerecht werdender Farbstoff gefunden.

In den Vorversuchen selbst kam Wasserblau ohne Kombination mit Metachromgelb zur Verwendung. Solcher Nährboden ist bei der üblichen schwach lackmusalkalischen Reaktion schön himmelblau; bei Milchzuckerzusatz wird er durch *Bacterium coli* tief dunkelblau verfärbt; die Kolonien sind in Durchsicht blauschwarz-undurchsichtig, in Aufsicht blaugrau. Typhus und Ruhr entfärben den Nährboden, wachsen in Durchsicht helldurchsichtig-farblos, in Aufsicht weißlichgrau. Die geeigneten Konzentrationen des Wasserblau liegen zwischen 0,5 und 1 pro mille. Im Farbumschlag zeigt also Wasserblau ein prinzipiell gleiches Verhalten wie Säurefuchsin; es ist diesem jedoch zunächst schon darin überlegen, daß die Dunkelfärbung des *B. coli* durch Säurebildung eine ungleich intensivere ist als beim Säurefuchsin. Den durchsichtig

1) Kindborg, E. u. A., Ueber eine neue Farbenreaktion zur Erkennung des Typhusbacillus und verwandter Arten im Plattenausstrich. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. S. 554.) — Kindborg, E., Verbesserter Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhrdiagnose. (Ebenda. Bd. 77. 1916. S. 442.)

**roten Coli-Kolonien auf Säurefuchsin entsprechen undurchsichtig-blaue, fast blauschwarze Kolonien auf Wasserblauagar.**

Der besondere Vorteil des Wasserblau liegt nun noch in seiner Kombinationsfähigkeit mit Metachromgelb. In den ersten Versuchen kamen Wasserblau und Metachromgelb in gleichen Konzentrationen zur Anwendung, wobei ein blaugrüner Nährboden resultiert. Um einen schön grünen Nährboden zu erhalten, muß der Wasserblauzusatz etwas geringer gewählt werden als der Metachromgelbzusatz. Auf Grund der vielfachen Versuche, in denen das geeignetste Verhältnis von Wasserblau und Metachromgelb II RD austitriert wurde, empfehle ich die folgende Vorschrift:

Zu 2 l eines schwach lackmusalkalischen Hefewasser- oder Fleischwasser-Pepton-Agar füge man

- 1) 125 ccm 2-proz. Metachromgelblösung (2 Minuten aufgekocht),
- 2) 175 ccm 1-proz. Wasserblaulösung + 100 g Milchzucker (10 Minuten gekocht).

Getrenntes Aufkochen ist nötig, da sonst Fällungen auftreten, welche die Wirksamkeit des Metachromgelbs beeinträchtigen und den Nährboden unansehnlich machen.

Der erhaltene Nährboden ist schön grün; *Bacterium coli* verfärbt ihn tiefblau; die Kolonien erscheinen in der Durchsicht fast undurchsichtig blauschwarz, in der Aufsicht blaugrau, wobei das Zentrum der Kolonien mehr blau, der Rand mehr grau erscheint. Typhus und Ruhr hellen den grünen Nährboden gelblich auf, wachsen in Durchsicht gesehen gelblich-glasig, in Aufsicht gelblichgrau. Der Farbumschlag ist sehr deutlich, er gestattet auch unmittelbar nebeneinander und ineinander wachsende Kolonien scharf zu unterscheiden, und zwar sowohl in Aufsicht wie in Durchsicht. Auch ganz kleine Kolonien geben sich bei Lupenvergrößerung deutlich als Typhus-Ruhr bzw. Coli zu erkennen. Das Farbenbild ist ferner bei künstlichem Licht zum mindesten in der gleichen Schärfe zu beurteilen wie bei Tageslicht; Coli-Kolonien zeigen bei Lampenlicht in der Durchsicht einen schwarzvioletten Schimmer.

Durch besondere Versuche wurde weiter festgestellt, daß das Verhältnis sich entwickelnder Coli- und Typhuskolonien genau dem Verhältnis der zur Aussaat gebrachten Keime entspricht; es findet also insbesondere keinerlei Hemmung der Typhus-Ruhrkeime statt. In dem gleichen Sinne sprechen die günstigen praktischen Erfahrungen, die im hiesigen Untersuchungsamt mit dem Metachromgelb-Wasserblau-Nährboden gemacht sind; seit 9 Monaten werden alle laufenden Stuhluntersuchungen ausschließlich mit diesem Nährboden durchgeführt, wobei auch festgestellt wurde, daß das Agglutinationsvermögen der Typhus- und Ruhrbazillen nicht schädlich beeinflusst wird.

Dem Metachromgelb-Wasserblauagar sei der Name **Dreifarben-Nährboden** gegeben, weil er neben der grünen Grundfarbe einen doppelten Farbumschlag zeigt: Blaufärbung durch *B. coli* und Säurebildner, Gelbfärbung durch die Bakterien der Typhus-Ruhrgruppe.

Die besonderen Vorzüge dieses Nährbodens sind:

- 1) Billige<sup>1)</sup> und einfache Darstellung.
- 2) Doppelter Farbumschlag sowohl durch Coli-Keime, wie auch durch Typhus- und Ruhrkeime.
- 3) Besondere Schärfe des Farbumschlages durch Undurchsichtigwerden der Coli-Kolonien gegenüber dem durchsichtigen Wachstum der Typhus- und Ruhrkolonien.

<sup>1)</sup> Die Kosten für Metachromgelb + Wasserblau belaufen sich für den Liter Nährboden auf ca. 7 Pfennige.

4) Gute Beobachtung des Farbenumschlages sowohl in Durchsicht wie in Aufsicht, ferner sowohl bei natürlichem, wie vor allem auch bei künstlichem Licht.

5) Keinerlei Wachstumshemmung und keine Schädigung des Agglutinationsvermögens der Typhus- und Ruhrkeime.

6) Wohl dagegen totale Unterdrückung störender Kokken und Sporenbildner. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Regenerierung von Nährböden.

[Aus dem Hygienischen und Bakteriologischen Institut der Haupt- und Residenzstadt Budapest (Direktor: Univ.-Prof. Dr. B. Vas).]

Von Dr. Edmund Ströszner, Abteilungsvorstand.

Der Kampf gegen die infektiösen Krankheiten, insbesondere gegen die sogenannten Kriegsseuchen, brachte eine so intensive und ausgedehnte Arbeit auf dem Gebiete der praktischen Bakteriologie mit sich, wie nie zuvor. Nicht nur die speziellen bakteriologischen Untersuchungen an und für sich, sondern auch die Herstellung von Impfstoffen der verschiedensten Art im großen stellten solche Anforderungen an die bakteriologische Technik, daß man sich gezwungen sah, manche Vereinfachungen, praktische Modifikationen etc. einzuführen.

So ist unter anderem, teilweise aus Sparsamkeitsrücksichten, teilweise wegen gänzlichen Einfuhrmangels gewisser, zur Bereitung der gebräuchlichen Nährböden nötigen Rohmaterialien, auch die Regenerierung der Nährböden auf die Tagesordnung gekommen.

Die diesbezüglichen Vorschläge richteten sich dahin, einerseits den einmal schon benützten Agar (Endo-, Conradi-Drigalski-Agar) wieder gebrauchsfähig zu machen, anderseits billige, leicht beschaffbare Ersatzstoffe für Bouillon zu finden.

In der Literatur ist bereits eine ganze Reihe von Regenerationsmethoden des Agars angegeben worden; die damit erzielten Erfolge sind jedoch keine übereinstimmenden.

Wie jüngst Baerthlein<sup>1)</sup> ausführlich erörterte, handelt es sich bei der Regenerierung des Agars einerseits darum, ihm die nötige Konsistenz zu verleihen, anderseits die Bakterien selbst und die durch das Wachstum derselben entstandenen Stoffwechselprodukte zu entfernen, resp. die verbrauchten Nährsubstanzen in entsprechendem Maße zu ersetzen. Bei der Erzielung dieser Postulate habe ich manche von den literarischen Angaben abweichende Erfahrungen zu verzeichnen.

So z. B. empfiehlt Baerthlein, den Verlust an Kondenswasser durch Hinzugabe von destilliertem Wasser (500 ccm auf 1 l Agar) zu ersetzen. So oft ich dies tat, bekam ich immer wieder einen ziemlich weichen, in seiner Brauchbarkeit herabgesetzten Agar. Ich stand daher später von der Zugabe destillierten Wassers ganz ab, um so mehr, als ich auch so genügend Kondenswasser bekam.

Auch hinsichtlich des Alkalizusatzes weiche ich ab, indem ich von der Hinzugabe von Alkali ganz absehe, da der regenerierte Agar fast immer den nötigen Alkalitätsgrad besitzt. Nur in den allerseltensten Fällen ist eine Alkalisierung nötig.

Was den Ersatz der verbrauchten Nährstoffe anbelangt, so dient dazu entweder gewöhnliche Bouillon oder Liebig-Bouillon. Baerth-

1) München. med. Wochenschr. 1917. No. 14.

Hein empfiehlt auch die Hottingersche<sup>1)</sup> Nährfleischbouillon zu diesem Zwecke. (Ueber diese habe ich leider keine Erfahrung, da ich das zu ihrer Darstellung nötige Pankreatin nicht bekommen konnte.) Ich meinerseits möchte noch die Szászsche<sup>2)</sup> Bouillon empfehlen, die aus Rinderblut hergestellt wird und zufolge ihrer Billigkeit besonders dort Verwendung finden soll, wo bedeutende Bouillonmengen, z. B. bei Bereitung von Vaccins im Großbetriebe, verarbeitet werden. Was die Menge des Bouillonzusatzes anbelangt, so empfehlen Kühn und Jost<sup>3)</sup> pro Liter Agar  $\frac{1}{2}$  Liter Nährbouillon oder Liebig-Bouillon (6,5 g Pepton Witte und 6,5 g Fleischextrakt). Man kann aber mit einem viel geringeren Bouillonzusatz — pro Liter Agar 300 ccm Nährbouillon oder 1—1,5 Proz. Liebig-Bouillon — auskommen, wobei man noch den Vorteil hat, auf diese Weise auch an der Konsistenz des Agars zu bessern. Zudem erspart man noch pro Liter Agar 200 ccm Bouillon.

Die Klärung des Agars geschieht mittels Hühnereiweißes, Blutserums, defibrinierten Blutes oder Tierkohle. Am besten bewährte sich mir, Tierkohle und defibriniertes Blut zu kombinieren, wobei man die schönsten Erfolge bekommt.

Die Nachprüfung der Regenerationsmethode des Agars nach Baerthlein und Guth<sup>4)</sup> ergab bei der genauesten Einhaltung der Vorschriften nicht das erhoffte Resultat.

Der nach Baerthlein regenerierte Agar war immer zu weich und braun gefärbt. Eine Aussaat von Faeces konnte daher kaum ausgeführt werden.

Bei der Guthschen Regenerierungsmethode hat sich zur Klärung pro Liter flüssigen Agars 1 Hühnereiweiß für zu wenig erwiesen; man müßte davon 3—4 nehmen, um gutes Resultat zu bekommen. Ferner bilden manche Bakterien (z. B. Paratyphus) auf diesem Agar einen schmierigen, oft die ganze Agarplatte überziehenden Rasen.

Mir hat sich folgende Methode am besten bewährt: Der verbrauchte Agar wird in einem emaillierten Topf in strömendem Dampf (ohne Zusatz von Wasser) verflüssigt und dann in einem Meßkolben abgemessen. Kein Alkalizusatz. Nun gibt man zu je 1 l verflüssigten Agars 40 g fein pulverisierte Tierkohle und kocht 30—40 Minuten in Dampf. Dann kühlt man auf 50° C ab und setzt zu je 1 l flüssigen Agars 40 ccm defibriniertes Blut. Abermaliges Kochen in strömendem Dampf 40 Minuten lang. — Filtration. — Zum abfiltrierten, nunmehr ganz klar gewordenen Agar gibt man Fleischbouillon oder 1—1,5 Proz. Liebig-Bouillon hinzu, und zwar 300 ccm auf je 1 l filtrierten Agars. — Sterilisation. — Der so regenerierte Agar ist ebenso konsistent und von demselben Aussehen wie ein frisch bereiteter. — Das Wachstum der Bakterien auf demselben ist ein ganz perfektes.

Was nun die Regenerierung des Endo-Agars anbelangt, so handelt es sich hier auch noch um die Entfernung der roten Farbe. Sehr einfach ist das Verfahren von Guth, der dem Endo-Agar mit Eiweiß behandelt. Der Erfolg, den wir erhielten, war jedoch kein befriedigender. da dem Agar noch eine ziemlich intensive Farbe anhaften bleibt, so daß seine Brauchbarkeit sehr leidet. Einige Autoren, so Kühn und Jost, empfehlen Chemikalien zur Entfärbung des Farbstoffes, Rickenberg<sup>5)</sup> ein Entfärbungspulver von Kahlbaum, das ich mir leider nicht verschaffen konnte, so daß ich diese Methode nachzuprüfen nicht in der Lage

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75 und 77. 3) Siehe bei Baerthlein.

4) Deutsch. med. Wochen. 1915. No. 52. 5) Münch. med. Wochen. 1917. Nr. 16.

war. Kühn und Josts Methode leidet nach Rickenberg an dem Fehler, daß der Agar, zufolge der zugefügten Chemikalien, sehr gebräunt wird.

Wir versuchten also, auf eine andere Weise zum Ziele zu kommen, und zwar, wie folgt:

Unser Verfahren stützt sich auf die Methode von Baerthlein, die er für Conradi-Drigalski-Agar angibt, weicht jedoch von ihr insofern ab, als wir das Kondenswasser nicht ersetzen, die Kohlenmenge höher nehmen, anstatt Serums defibriniertes Blut benützen und auch — wie beim gewöhnlichen Agar — den Bouillonzusatz vermindern.

Man löst den verbrauchten Endo-Agar in einem Emailletopf in strömendem Dampfe auf, mißt ihn dann in einem Meßkolben ab, gibt zu je 1 l verflüssigten Agars 50 g Tierkohle und kocht diese Mischung 30—40 Minuten lang im Dampftopf. (Es empfiehlt sich öfteres Umrühren.) Nun kühlt man die Mischung auf 50° C ab, und zwar immer bei Zimmertemperatur unter fortwährendem Umrühren, damit Klumpenbildung verhindert werde, und setzt zu je 1 l Agar 50 ccm defibriniertes Blut. — 40 Minuten langes Kochen im Dampfe. Um ein Ueberlaufen der Masse, das selbst bei Watteverschluß vorkommt, zu verhindern, ist es notwendig, ein 3—4mal größeres Gefäß, als die zu verarbeitende Agarmenge faßt, zu verwenden. — Filtration. — Sterilisation. — Der filtrierte Agar ist schön durchsichtig, mit einem ganz leichten rosafarbenen Stich.

Zu 1 l filtrierten Agars gibt man dann 300 ccm Fleisch- oder Liebig-Bouillon (1—1,5 Proz.), 4 g Milchzucker, 4 ccm alkoholische konzentrierte Fuchsinlösung und 2 ccm 10-proz. Natr. sulfurosum-Lösung. Hinzugabe von Alkali konnten wir immer entbehren. — Sterilisation.

Der auf diese Weise regenerierte Endo-Agar ist von einem frisch bereiteten kaum zu unterscheiden, besitzt die nötige Konsistenz, und die Bakterien wachsen auf demselben gerade so wie auf einem frisch bereiteten.

In unserem Institute wird die Regeneration des Endo-Agars auf diese Weise schon seit längerer Zeit gepflegt und hat sich aufs beste bewährt.

Bemerken möchte ich aber, was auch Guth besonders hervorhebt, den zu regenerierenden Endo-Agar in ungeschmolzenem Zustande — selbst im Eisschrank — höchstens nur 3—4 Tage stehen zu lassen, da er sonst zur Regeneration unbrauchbar wird. Auch empfiehlt es sich, den schon fertigen, regenerierten Endo-Agar (was ja auch vom frisch bereiteten gilt, doch hier noch mehr) bald, in 1—2 Tagen, zu benützen, da er sich sonst zu rot färbt. (G. C.)

### Inhalt.

**Bahr, L.**, Zehnjährige Erfahrungen mit „Ratin“, S. 213.

**Feldmann, Ignatz**, Ueber choleraähnliche Vibrationen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Mutationsvorgänge, S. 129.

**Gachtgens, Walter**, Vergleichende Untersuchungen über die Erreger des Gasbrandes und des malignen Oedems, S. 166.

**Gaßner, G.**, Ein neuer Dreifarben-nährboden zur Typhus - Ruhr - Diagnose, S. 219.

**Kindborg, E.**, Zur Technik des Gonokokkennachweises, S. 188.

**Manninger, B.**, Ueber Komplementbindungsversuche bei Schatpocken, S. 190.

**Pfenninger, Walter**, Ueber die Beeinflussung der Agglutininproduktion, S. 200.

**Salus, G.**, Zur Paragglutination, S. 196.

**Ströszner, Edmund**, Ueber die Regenerierung von Nährböden, S. 222.

**Versár, Fritz**, Ueber spontan agglutinierende Typhusbazillen, S. 161.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

## Zur Kenntnis einiger defektiver Coli-Formen.

Von Privatdozent Dr. **Heinrich Prell**,  
z. Zt. Militärkrankenwärter am Festungshauptlazarett Ulm.

Während die Mehrzahl der *B. coli*-Stämme, welche sich aus dem menschlichen Darms isolieren lassen, die Fähigkeit besitzt, Milchzucker zu vergären, stößt man gelegentlich auch auf solche, denen diese Fähigkeit abgeht. Bei der für die Praxis in Betracht kommenden Zucht der Darmbakterien auf Endo-Agar wachsen die fraglichen defektiven Coli-Stämme im Gegensatz zu den sattroten Kolonien des *B. coli commune* in farblosen oder weißlichen Kolonien. Sie nähern sich aus diesem Grunde in ihrem Aussehen sehr den Kolonien pathogener Bakterien aus der Typhus- und Dysenteriegruppe und lenken daher immer wieder die Aufmerksamkeit des Untersuchers auf sich. In manchen Fällen ist es tatsächlich unmöglich, einen solchen hellwachsenden Coli, selbst beim direkten Vergleiche, von einem echten, erwiesenermaßen stark pathogenen *B. paratyphosum* B allein nach seiner Wuchsform zu unterscheiden.

Schon zu wiederholten Malen ist, fußend auf dieser Annäherung in biologischer Beziehung, der Versuch gemacht worden, solche defektive Coli-Stämme gleichsam als Zwischenglieder in einer hypothetischen Uebergangsreihe vom *B. coli* zu den pathogenen Arten anzusehen. Auf diese Weise wird es möglich, geradezu einen Stammbaum der pathogenen Bakterien zu rekonstruieren, der einen sehr überzeugenden Eindruck macht.

Angesichts dieser weitgehenden Folgerungen ist eine genauere Beschäftigung mit dem Charakter solcher defektiver Coli-Stämme sicherlich recht wünschenswert. Nur so wird es möglich sein, sich zuverlässige Kenntnisse von ihrer Natur zu verschaffen. Als kleiner Beitrag in dieser Richtung mögen des weiteren einige Beobachtungen zur Sprache gebracht werden, die vielleicht geeignet sind, den Standpunkt gegenüber den defektiven Coli-Stämmen etwas umzugestalten.

### 1.

Die defektiven Coli-Stämme, also diejenigen, welche in irgendeiner Beziehung den normalen Coli-Stämmen gegenüber verarmt zu sein scheinen, können sich von dem fermentativ am reichsten begabten *B. coli* durch den Mangel der verschiedensten Gärfähigkeiten unterscheiden. Beschränkt man sich auf eine Betrachtung des Verhaltens gegenüber Milchzucker, weil dieses ganz besonders für die Praxis von Bedeutung ist, und berücksichtigt nur die Gärfähigkeit als solche, so lassen sich immer noch verschiedene Gruppen innerhalb der laktose-defektiven Coli-Stämme unterscheiden.

Eine erste Gruppe bilden diejenigen Stämme, welche dauernd unfähig sind, den Milchzucker anzugreifen. Eine weitere Gruppe umfaßt diejenigen, welche zwar anfänglich den Milchzucker nicht vergären können,



nach längerem Wachstum auf dem gleichen, laktosehaltigen Nährboden aber doch den Zucker zersetzen, ohne diese Fähigkeit dann dauernd beizubehalten. Bei Weiterimpfung werden sie also jedesmal erst wieder hell wachsen und dann nach einer gewissen Zeit aufs Neue den Milchzucker angreifen. In die dritte Gruppe gehören diejenigen Stämme, welche ebenfalls mit der Zeit sich an die Milchzuckervergärung anpassen, also auf der Platte allmählich rot kernig werdende Kolonien entwickeln, bei denen diese Anpassung aber eine dauernde ist, derart, daß bei Weiterimpfung von dem roten Kerne Kolonien entstehen, welche den Milchzucker sofort anzugreifen imstande sind. Der vierten und letzten Gruppe schließlich gehören diejenigen defektiven Coli-Stämme an, welche aus noch unbekannten Gründen in ihren Kolonien auf Laktoseagar plötzlich laktosevergärende Individuen hervorbringen, von welchen sich dann die bekannten knötchenartigen Sekundärkolonien der sogenannten Knopfmodifikation ableiten. Daß diese Gruppen selbst sich wieder in zahlreiche Untergruppen aufspalten lassen, ist ja bekannt; es würde aber die Durchführung einer solchen Aufspaltung wohl nur zu einer weiteren Komplikation führen, ohne für das Folgende Bedeutung zu haben, und kann daher unterbleiben.

Systematisch getrennt vom eigentlichen *B. coli* sind nur die erste und die letzte der genannten 4 Gruppen. Unter dem Namen des *B. paracoli* werden die dauernd dem Milchzucker gegenüber inaktiven Coli-Stämme als eine besondere Art abgegliedert, während die durch Bildung von Tochterkolonien zur Milchzuckervergärung übergehenden Coli-Stämme unter dem Namen des *B. coli mutabile* Neisser nur als eine Rasse des gewöhnlichen *B. coli commune* betrachtet werden. Diese Anschauungsweise scheint einer Revision bedürftig zu sein.

## 2.

Die Eigenschaft, Milchzucker nicht vergären zu können, ist ein scharf umrissener Begriff, der sich sehr wohl zu einer systematischen Charakterisierung eignet. Eine Frage aber ist es, ob der gegenteilige Charakter, die Fähigkeit der Milchzuckervergärung, ebenfalls einheitlich genannt werden darf. Solange man nur die eine Tatsache ins Auge faßt, daß der Milchzucker angegriffen und zersetzt wird, kann man die Frage vielleicht bejahen. Sowie man aber auch die Natur der Stoffe mitberücksichtigt, welche bei der Aufspaltung des Milchzuckers entstehen, sieht man sofort, daß von einer Einheitlichkeit gar keine Rede sein kann.

Der grösste und auffälligste Unterschied, der einem in dieser Beziehung begegnet, wird dann sichtbar, wenn man die Gasbildung aus Milchzucker prüft. Es ist eine bekannte Tatsache, daß ein Teil der Coli-Stämme die Laktose zersetzt, ohne daß dabei Gase als Abbauprodukte entstehen, während andere aus ihr auch gasförmige Substanzen abspalten. Und diese gasbildenden Stämme wiederum sind untereinander nicht völlig gleich, denn das Quantum des erzeugten Gases ist dabei oft recht verschieden. Eine sorgfältige Analyse der Abbauprodukte des Milchzuckers durch verschiedene Stämme wird es also ermöglichen können, eine ganze Reihe von Coli-„Rassen“ zu unterscheiden, die zwar alle Milchzuckervergärer sind, aber die Aufspaltung in verschiedener Richtung und bis zu einem verschiedenen Grade treiben.

Im vorliegenden Falle scheint es nun erforderlich, einige Punkte, welche für das Weitere in Betracht kommen, kurz zu berühren.

Zunächst einmal läßt es sich leicht beim Vergleiche zahlreicher Individualstämme des *B. coli* auf Originalausstrich-Endo-Platten beobachten, daß dieselben den Nährboden in verschiedener Weise verändern. Manche Stämme besitzen nur ein ziemlich schwaches Rot, bei anderen ist die Farbe in verschiedenem Maße satter und tiefer, gelegentlich sind die Kolonien geradezu schwarzrot; nur in einem Falle konnte ich einen Stamm isolieren, der ausgesprochen violett wuchs. Wie in der Farbe auf der Endo-Platte, so unterscheiden sich die Stämme auch vielfach durch ihren Geruch. Während derselbe bei manchen wenig charakteristisch ist, entströmt anderen Kulturen ein scharfer, an Essig erinnernder, saurer Geruch. Alle diese Verschiedenheiten sind ohne weiteres auf verschiedene Weisen der Milchzuckerspaltung zurückzuführen.

Eine Untersuchung, welcher Art die Verschiedenheiten in chemischer Beziehung sein können, liegt weit außerhalb des Rahmens der vorliegenden Fragen. Ein Berühren derselben macht sich nur deshalb erforderlich, weil sie bereits von anderer Seite im Hinblick auf die Praxis angeschnitten worden sind. Aronson hat, in der Annahme, daß die bei der Milchzuckervergärung entstehende Säure stets Milchsäure sein müsse, Versuche angestellt, den Endo-Nährboden mit Milchsäure zu röten. Da ihm dies nicht gelang, glaubte er, die Rötung überhaupt nicht auf eine Säurereaktion, sondern auf eine Aldehydreaktion zurückführen zu müssen. Demgegenüber ist zu bemerken, daß Milchsäure keineswegs ohne Einfluß auf den Endo-Agar ist. Bringt man einen kleinen Tropfen Milchsäure auf Endo-Nährboden, so wird an der betreffenden Stelle selbst allerdings der Farbton kaum verändert, wohl aber bildet sich außen um den Rand des Tropfens ein deutlicher, roter Ring, der auch dann bestehen bleibt und nicht zur Scheibe geschlossen wird, wenn der Tropfen längst vom Nährboden aufgesogen ist; später nimmt das Rot einen mehr violetten Farbton an. Sodann stellte sich bei Fixationsversuchen heraus, daß eine mit der oben erwähnten Violettfärbung des Endo-Agars durch einen Coli-Stamm weitgehend übereinstimmende Veränderung desselben auch durch Formaldehyd verursacht wird; unter einem Tröpfchen Formaldehyd wird der Nährboden satt violett und nach außen schließt sich ein roter Hof an. Andererseits erzeugt verdünnte Essigsäure genau den gleichen Farbton, wie ihn die Mehrzahl der Coli-Stämme hervorbringt. Ob man daraus ohne eingehende chemische Analyse den Schluß ziehen darf, daß es auch tatsächlich diese Substanzen sind, welche bei der Milchzuckergärung von den betreffenden Stämmen gebildet werden, soll nicht behauptet werden; gerade für die Essigsäure, die auch durch den Geruch sich bemerkbar macht, kann man es aber wohl mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen.

Hervorhebenswert ist es nun, daß die verschiedenartigen Vergärungsweisen des Milchzuckers augenscheinlich innerhalb eines Klonen wechseln, genau so wie die Gärfähigkeit überhaupt. Bei sehr vielen Coli-Stämmen ist es möglich, durch fortgesetzte Züchtung Pleonten abzuspalten, welche in verschiedener Farbe auf dem Endo-Agar wachsen. Der Uebergang eines Pleonten in den anderen erfolgt dabei häufig ebenfalls auf dem Wege der Knopfmodifikation. Läßt man auf dickgegossenen Endo-Platten wenige Kolonien des gewöhnlichen *B. coli* längere Zeit wachsen, so tritt sehr häufig bei ihnen Knötchenbildung auf. Da ich entsprechende Knötchenbildung derselben Stämme auf Nähragar nicht

beobachten konnte, muß ich annehmen, daß der Milchzucker die Substanz ist, auf welche letzten Endes die Knötchenbildung sich bezieht. Da nun die betreffenden Stämme an und für sich schon Milchzuckervergärer waren, so muß man eben annehmen, daß den Individuen der Sekundärkolonien eine weitergehende Aufspaltung des Zuckers möglich ist, und daß sich ihnen durch diese Begabung gegenüber den anderen Individuen günstigere Lebensbedingungen erschließen. Eine gewisse Bestätigung dafür bedeutet es, daß es mir in einem Falle gelang, durch Knopfmuation aus einem die Laktose nur säuernden Stamme einen Laktose unter Gasbildung vergärenden Pleonten zu gewinnen.

Für das Weitere seien alle Milchzuckervergärer zusammengefaßt und einheitlich den Milchzucker nicht vergärenden Coli-Formen gegenübergestellt.

### 3.

Es ist eine bemerkenswerte Tatsache, daß das Auftreten heller Coli-Formen in den Original-Endo-Ausstrichen von Stuhlproben besonders dann zu beobachten ist, wenn der Stuhl von Darmkranken stammt. Legt man bei der Beurteilung dieses Verhaltens die Theorie von dem einheitlichen Individualstamm des *B. coli* zugrunde, so ergeben sich einige Schwierigkeiten.

Nach der Ansicht von Escherich gehören sämtliche Coli-Bakterien, welche den Darm eines Individuums bevölkern, dem gleichen Stamme an. Schon kurz nach der Geburt in den Darm einwandernd, bleibt dieser Stamm unter gewöhnlichen Verhältnissen ein treuer Begleiter des einzelnen Individuums bis zu dessen Ende und darf daher wohl den Anspruch machen, als sein Individualstamm bezeichnet zu werden. Wenn auch ein bindender Beweis für die Richtigkeit dieser Betrachtungsweise nicht erbracht werden kann, so hat sie doch viel Bestechendes an sich. Und selbst, wenn die absolute Kontinuität desselben Coli-Stammes während des ganzen menschlichen Lebens sich als irrig herausstellen sollte, wenn also vielleicht verschiedene Coli-Stämme sich in der Alleinherrschaft im Darne ablösen sollten, so bleibt doch mit größter Wahrscheinlichkeit die Annahme zurück, daß wenigstens fast stets zu einem bestimmten Zeitabschnitte sämtliche im Darm vorhandenen Coli-Bakterien dem gleichen Stamm angehören.

Dem scheint es zu widersprechen, daß man nicht selten im gleichen Originalausstriche Coli-Kolonien findet, die in ihrem Aussehen voneinander grundverschieden sind. Und auf diese Tatsache ist auch bereits von Burk, zur Widerlegung der Theorie vom Individualstamme, hingewiesen worden. Dieser Einwurf würde dann stichhaltig sein, wenn wirklich die Verschiedenheit der Kolonieförmigen einen Ausdruck der stammlichen Verschiedenheit ihrer Komponenten, also der betreffenden Bakterienformen, bedeutete. In manchen Fällen mag das zutreffen, in anderen geschieht das sicher nicht.

Aus einem von mir genauer untersuchten Originalstuhlausstriche gelang es mir, vier verschiedene Coli-„Stämme“ zu isolieren, deren Kolonien ein grundverschiedenes Aussehen besaßen. Diese scheinbar einander völlig fremden Stämme waren in Wirklichkeit aber weiter nichts, als verschiedene Erscheinungsformen desselben Stammes. Denn einmal ließen sie sich vergleichend zurückführen auf die verschiedenen Typen, die bei der Bouillonkultur-Dauerbebrütung aus einem sicher einheitlichen Stamme zu erzüchten waren, und dann gelang es, wenigstens

teilweise, die frisch isolierten „Stämme“ durch Dauerbebrütungsversuche wechselweise ineinander überzuführen. Fälle, bei denen nur zwei Coli-Formen nebeneinander vorkamen, fanden sich recht oft und ließen sich ebenso aufklären. Weiterhin bot dann der Vergleich von Stuhlausstrichen derselben Person bei normaler und bei gestörter Darmfunktion Veranlassung zu der Vermutung, daß der jeweilige Zustand des Darmes für die Erscheinungsform des *B. coli* bestimmend sei, und daß, wie beim Dauerbebrütungsversuche, so auch im Darne ungünstige Verhältnisse des Milieus eine Aufspaltung in verschiedenen Erscheinungsformen zur Folge hätten. Während diese Beobachtung an einer sonst gesunden Person gemacht wurde, stellte sich auch bei dem vorhin erwähnten Falle einer darmkrank gewesenen Person, bei der vier Coli-Typen isoliert werden konnten, heraus, daß nach Abklingen der Darmstörung nur noch eine Coli-Form im Stuhlausstriche vorkam.

Um das Vorhandensein verschiedener Stämme des *B. coli* braucht es sich also nicht zu handeln, wenn der Originalausstrich verschiedene Wuchsformen von Coli-Kolonien aufweist. Es sind vielmehr vorwiegend verschiedene Erscheinungsformen des gleichen Stammes, die nebeneinander vorkommen können.

Anders scheinen die Verhältnisse beim Auftreten defektiver Coli-Kolonien neben den normalen, laktosespaltenden Kolonien auf der Original-Endo-Platte zu liegen. Hier handelt es sich ja um Bakterien, welche an ihrem natürlichen Standorte, im Darmkanale, in einer Form auftreten, die sich physiologisch durch den Mangel der Fähigkeit, Milchsucker zu vergären, tiefgreifend von dem normalen *B. coli commune* unterscheiden. Andererseits berechtigt ihre Uebereinstimmung mit demselben in zahlreichen anderen Beziehungen dazu, sie als Angehörige der gemeinsamen Großart des *B. coli* oder eines um diese Großart zu gruppierenden Artkomplexes zu betrachten.

Das Auftreten der defektiven *B. coli* in den Originalausstrichen Darmkranker scheint im allgemeinen dann nachzulassen und allmählich aufzuhören, wenn die Krankheit selbst vorüber ist, und der Organismus eine gewisse Zeit gefunden hat, wieder seine normalen Funktionen zu übernehmen. Dies und die Tatsache, daß defektive Coli-Stämme sich bei einem hohen Prozentsatze der Darmkranken finden, verleiht ihrem Erscheinen den Charakter einer Neuinfektion, die mit der Darmkrankheit in engem Zusammenhange steht.

Auf der anderen Seite spricht gerade dieses häufige, manchmal fast gesetzmäßig erscheinende Auftreten defektiver Coli-Kolonien in den Stühlen von Kranken, deren Darm infolge Befalles durch Bakterien der Typhus- oder Dysenterie-Gruppe schwer geschädigt ist, eigentlich eher gegen die Annahme einer gleichzeitigen Nebeninfektion auch mit dem defektiven *B. coli*. Wenn es natürlich auch nicht unmöglich ist, so bleibt es doch recht unwahrscheinlich, daß der Infektion mit dem echten Krankheitserreger so oft auch noch eine Infektion mit einer bestimmten Coli-Rasse parallel gegangen sein soll.

Ein gewisses Licht werfen auf diese Verhältnisse einige zufällig gewonnene Resultate bei Mischkulturen von *B. coli* und *B. typhi*.

#### 4.

Zur Nachprüfung der Ueberwucherbarkeit von *B. typhi* durch *B. coli* wurden wiederholt nach der Vorschrift von Nissle für die von

ihm vorgeschlagenen Verdrängungsversuche Bouillonröhrchen nacheinander mit einem reinen Stamme des *B. typhi* und einem reinen Stamme des *B. coli* beimpft. Hierbei erwies sich zu wiederholten Malen die Mischkultur doch als nicht „rein“. Neben typischen Kolonien des *B. typhi* und ebenso typischen des *B. coli* fanden sich auf den Ausstrichplatten mehrfach hellwachsende Kolonien, die sich durch ihre beträchtlichere Größe und ihr dichteres Wachstum von den Typhuskolonien unterschieden. Auf der Originalplatte pflegten sie in flachen, weißlichen Scheiben zu wachsen, um dann bei der Weiterimpfung zwei verschiedene, konstante Typen zu ergeben, welche bis auf die Farbe ganz mit meinen Typen C und D des *B. coli commune* übereinstimmten. Manchmal traten diese Formen auch gleich auf der Originalplatte in ihrer typischen Wachstumsweise auf. Von der Platte agglutinierten die fraglichen Kolonien nicht mit Typhusserum, wohl aber bei der Austitrierung, so daß Zweifel über ihre Zugehörigkeit aufkommen konnten. Behoben wurden diese durch die Anstellung von biologischen Versuchen und durch Plattenkultur-Dauerbebrütung.

Bei den biologischen Versuchen wurden nur die für gewöhnlich angewendeten Nährböden herangezogen. Auf ihnen gaben die Bakterien zuerst ein Verhalten, welches stark an dasjenige der Paratyphusbakterien erinnerte. Nach verschieden langer Zeit schlugen aber die milchzuckerhaltigen Flüssigkeiten um; in der Barsiekowschen Milchzuckerlösung trat Rötung und Ausfällung ein, und die Petruschkysche Lackmusmolke nahm die für *B. coli* charakteristische ziegelrote Färbung an. Ausstriche auf Endo-Agar ergaben jetzt, daß neben den hellwachsenden Bakterien auch rotwachsende aufgetreten waren. Die gleichzeitig angestellten Dauerbebrütungsversuche von Platten zeigten, daß es sich um einen Vorgang wie bei der gewöhnlichen Knopfmodifikation heller Coli-Stämme handelte; nach etwa 3—7 Tagen entwickelten sich auf den Kolonien tiefroter Knospen, die in der Weiterzucht wieder rote Kolonien ergaben.

Es war also während der Mischkultur eine Umänderung des verwendeten normalen, milchzuckervergärenden Coli-Stammes in einen ihn nicht vergärenden *Mutabile*-Stamm erfolgt.

Daß der zu diesen Versuchen verwendete Stamm gerade von einer angeblich nie darmkrank gewesenen Person stammte, und unter normalen Verhältnissen auch bei langem Stehen unverändert blieb, sei nur beiläufig erwähnt. Leider wurde meine Aufmerksamkeit erst durch wiederholtes Auftreten der hellen Form bei demselben Stamme auf deren gesetzmäßiges Erscheinen gelenkt; aus diesem Grunde sind analoge Veränderungen, wie ich sie in anderen Mischkulturen mehrfach beobachten konnte, als „Verunreinigungen“ ungenutzt und ungeprüft beseitigt worden.

## 5.

Eine Veränderung des physiologischen Verhaltens eines *B. coli* gegenüber dem Milchzucker im Anschluß an eine Mischkultur mit *B. typhi* konnte ich noch in einem Falle verfolgen, der besonderes Interesse besitzen dürfte.

Bei den Verdrängungsversuchen nach dem Nissleschen Vorschlage hatte ich bei früherer Gelegenheit einen von Herrn Prof. Nissle zur Verfügung gestellten Originalstamm verwenden können, welcher von

einer gegen Darmkrankheiten sehr widerstandsfähigen Person stammte, und welcher auf Grund seiner starken antagonistischen Fähigkeiten bei der Uebertragung auf darmkranke Personen Heilwirkung ausüben sollte. Schon damals waren mir in Mischkulturen dieses Coli-Stammes mit Typhusstämmen hellwachsende, sonst aber Coli-ähnliche Kolonien begegnet, welche ich damals aber als mutmaßliche Verunreinigungen nicht weiter beachtete. Bei neuerlich von Herrn Dr. Hermel mit diesem Coli-Nissle angestellten Versuchen traten nun solche helle Kolonien wieder mehrfach in den Ausstrichen von Mischkulturen mit *B. typhi* auf, und diesmal wurden sie, nachdem mir in liebenswürdigster Weise die beteiligten Kulturen zur Verfügung gestellt waren, etwas genauer geprüft.

Das biologische Verhalten auf verschiedenen Nährböden stimmte vollkommen mit demjenigen des *B. paracoli* überein. Auf der Endo-Platte ausgestrichen und dauernd bebrütet, zeigte die hellwachsende Form auch nach 14-tägigem Aufenthalte bei 37° noch keine Neigung zur Knospenbildung und wuchs auch bei Weiterimpfung wiederum hell<sup>1)</sup>. Unter diesen Umständen würde man dieselbe dann, wenn sie im Originalausstriche aufgetreten wäre, nicht für ein *B. coli*, sondern für ein *B. paracoli* gehalten haben.

Da der Versuch zu wiederholten Malen glückte, kann eine zufällige Verunreinigung bestimmt ausgeschlossen werden. In der Mischkultur mit *B. typhi* ist also aus dem *B. coli* ein *B. paracoli* hervorgegangen. Es ist überraschend, daß gerade beim Eigenstamm einer besonders gegen Darmkrankheiten widerstandsfähigen Person diese Umwandlung auftrat.

## 6.

Die bisher mitgeteilten Versuche haben ergeben, daß defektive Coli-Stämme nichts weiter sind, als Sonderformen gewöhnlicher Coli-Stämme. Und wenigstens eine der Bedingungen, unter denen diese Sonderformen auftreten, ist die Mischkultur mit einem pathogenen Bakter, wie diese ja im Darms des Erkrankten ebenfalls unter natürlichen Verhältnissen vorkommt. Dabei können die neu auftretenden defektiven Formen entweder reversibel nach der Art des *B. coli mutabile* sein, oder irreversibel nach der Art des *B. paracoli*.

Für die dem *B. coli mutabile* gleichende Form bietet dieser Befund, im Grunde genommen, gar nichts Neues. Vom *B. coli mutabile* ist es ja lange bekannt, daß seine durch Knospenbildung entstandene milchzuckervergärende Form gelegentlich in lange fortgesetzten Dauerkulturen wieder die den Milchzucker nicht vergärende abspaltet. Eine sehr alte Dauerkultur erinnert aber durch die darin aufgespeicherten reichlichen Stoffwechselprodukte etwas an eine Mischkultur mit den schädlichen Stoffwechselprodukten eines pathogenen Bakters.

Dieser Parallelismus des Versuchsergebnisses gestattet nun auch, zwanglos auf die Verhältnisse am natürlichen Standorte Schlüsse zu ziehen. Die Annahme liegt jetzt sehr nahe, daß der Individualstamm bei denjenigen Personen, die im Anschlusse an Darmkrankheiten auf Endo-Agar hellwachsende *B. coli mutabile* ausscheiden, kein gewöhnliches *B. coli commune* sei, sondern ein *B. coli mutabile* in

1) Inzwischen hat sich herausgestellt, daß auch ein sechsmonatiges Dauerwachsen auf Endo-Agar dieser hellwachsenden Coli-Form nicht das Gärungsvermögen für Milchzucker wiederzugeben vermochte.

der „mutatum“-Form. Demnach würde also die große Mehrzahl der Darmkranken im Besitze von Individualstämmen des *B. coli mutabile* sein. Und daran ließe sich sehr schön eine Theorie anknüpfen, daß es eben dieser Besitz von *B. coli mutabile* sei, welcher die betreffenden Personen für Darmkrankheiten anfällig macht, während die Personen mit echtem *B. coli* eben die wären, welche eine größere Unempfindlichkeit gegen Darmaffektionen besitzen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim *B. paracoli*. Eine Komplikation bedeutet hier nur die Tatsache, daß eine direkte Rückkehr zur Milchzuckervergärung in diesem Falle der defektiven Form, soweit wir es wissen, unmöglich ist. Im Prinzip ändert das aber an der Betrachtungsweise nichts. In beiden Fällen handelt es sich eben um das Auftreten defektiver Formen unter ungünstigen Verhältnissen des Milieus. Ob tatsächlich jemals die gesamten Coli des Darmes nach dem Einsetzen der Defektivmodifikation schließlich dem hellen Typ angehören, wissen wir nicht. Zu bezweifeln ist es jedenfalls, denn auf der Mehrzahl der Ausstrichplatten finden sich normale neben den defektiven Coli-Kolonien, und selbst wenn einmal eine Platte nur hellwachsende Coli aufweist, so darf man nur daran denken, wie unendlich wenig Material eigentlich damit biologisch geprüft worden ist. Man kann also wohl sagen, daß bei einer Darmerkrankung nur ein Teil der Individuen in die helle Form modifiziert wird. Und jetzt ist der Vorgang nach Ablauf der Erkrankung ohne weiteres zu verstehen. Die gärungstüchtigeren Coli finden dann bessere Lebensbedingungen; sie können sich rascher vermehren, und es gelingt ihnen, allmählich, wie das pathogene Bakter, so auch den eigenen hellen Pleonten zu überwuchern und zu verdrängen. Bei diesem Vorgange ist es ganz gleichgültig, ob die hellen Pleonten selbst wieder die Fähigkeit haben, rote abzuspalten. Die Abspaltungsfähigkeit kann höchstens dazu beitragen, rascher ein Ueberwiegen der Normalform zustande zu bringen und so auch rascher völlig normale Verhältnisse im Darne wiederherzustellen.

Angesichts dieser Analogie im Verhalten des *B. coli mutabile* und des *B. paracoli* läßt sich auch eine Analogie in ihrer systematischen Beurteilung nicht vermeiden.

Vorhin konnte ein normal wachsender, anscheinend zu *B. coli commune* gehöriger Stamm, nachdem es gelungen war, unter besonderen Bedingungen einen hellwachsenden Pleonten von ihm abzuspalten, als die „mutatum“-Form des *B. coli mutabile* bezeichnet werden. Jetzt dürfen wir auch einen Coli-Stamm, der im Versuche einen *B. paracoli* abspalten konnte, gleichsam als die vollwertige Form dieses *B. paracoli* ansehen.

In beiden Fällen handelt es sich also offensichtlich darum, daß gewisse Coli-Stämme die Fähigkeit haben, entweder eine *Mutabile*- oder eine *Paracoli*-Nebenform abzuspalten. Diese Stämme besitzen also den „normalen“ Coli-Stämmen gegenüber eine größere Wandelbarkeit. Aus diesem Grunde wäre es berechtigt, sie als besondere systematische Rassen abzugliedern, und, unter Anwendung einer ternären Nomenklatur, neben einem *B. coli commune* noch ein *B. coli mutabile* — ganz gleichgültig, ob es in der hellen „mutabile“-Form oder der roten „mutatum“-Form vorliegt — und ein *B. coli paracoli*, für welches das entsprechende gilt, zu unterscheiden. Auch diese Anschauungsweise wird sich auf die Dauer kaum halten lassen.

## 7.

Unter den von mir genauer auf ihre Wandelbarkeit geprüften Laktose nicht vergärenden defektiven Stämmen des *B. coli* befand sich einer, welcher eine über das gewöhnliche Maß hinausgehende Labilität der Erscheinungsform aufwies. Es war dies ein aus einem Stuhlausstrich gezüchtetes *B. coli mutabile*, welches Traubenzucker zwar zu säuern, nicht aber daraus Gas zu bilden vermochte. Durch dieses Verhalten steht es in einer gewissen Sonderstellung gegenüber den anderen beschriebenen *Mutabile*-Stämmen. Da aber hier nur sein Verhalten gegenüber der Laktose Berücksichtigung finden soll, darf wohl von dem Verhalten gegenüber der Dextrose abgesehen werden.

Der genannte Stamm wuchs auf Endo-Agar in außerordentlich zarten und hellen Kolonien. Da er außerdem anfänglich mit Typhuserum agglutinierte und, wie gesagt, Dextrose ohne Gasbildung vergor, erregte er den Verdacht, ein *B. typhi* zu sein. Diese Annahme bestätigte sich des weiteren nicht, da er die Agglutinierbarkeit mit Typhuserum einbüßte und dafür, wiederum vorübergehend, sich durch Paratyphus-B-Serum agglutinieren ließ, um dann jede Agglutinierbarkeit durch Sera pathogener Bakterien zu verlieren. Biologisch zeigte er seine Sonderstellung dadurch, daß er wie ein gewöhnliches *Coli mutabile* auf Endo-Agar nach 4 Tagen Knötchen ausbildete, welche tiefrot waren, und deren Deszendenz auch weiterhin Laktose zu spalten vermochte.

Mit diesem Stamme wurde ein Agarröhrchen beimpft und etwa 3 Wochen lang bei 37° bebrütet; sodann wurden von der Kultur Ausstriche auf Endo-Platten hergestellt. Das Resultat war überraschend, denn es stellte sich eine ganz erstaunlich große Aufspaltung in verschiedene Typen ein. Neben Verschiedenheiten im Aussehen der Kolonien, welche auf ihre Beständigkeit nicht geprüft wurden, waren es vor allem 3 verschiedene, hellwachsende Formen, welche erwähnt werden sollen. Die erste stimmte mit der Ausgangsform völlig überein, wuchs, wie diese, in zarten, hellen Kolonien und bildete auf jeder einzelnen Kolonie mehr oder weniger viele Knötchen aus, die rot waren und nur eine mäßige Größe erreichten. Die zweite wuchs etwas dichter und trüber und bildete auf jeder Kolonie etwa 1—2 tiefrote Knötchen aus, die sehr stark wucherten und oft an Größe die Mutterkolonie fast erreichten. Die dritte Form endlich wuchs in trüben, weißlichen Kolonien, welche gar keine Knötchenbildung aufwiesen und sich nur im Laufe der Zeit etwas röteten. Die schon im Ausstrich reichlich aufgetretenen roten Formen dürften wohl als Äquivalent der bei der Knötchenbildung entstehenden, laktosevergärenden Formen anzusehen sein. Ein besonderes Interesse erheischt nur die an dritter Stelle genannte Form. Sie blieb selbst nach 2-wöchentlicher Bebrütung der Platte und nach reichlich 1-monatlicher Aufbewahrung der lebenden Kolonien bei Zimmertemperatur unverändert. Nach dieser Zeit von den Kolonien als Ableger angelegte Platten erwiesen sich als einheitlich hellwachsend; Verimpfung auf Barsiekow-Milchzucker ergab keinerlei Vergärung. Mit einem Worte, diese Form zeigte die Charaktere des *B. paracoli* in bezug auf Milchzucker.

Es ist in diesem Falle also geglückt, aus einem laktosedefektiven Coli-Stamme, der die Neigung besaß, unter Knötchenbildung die Laktosevergärung wieder zu gewinnen, einen Pleonten abzuspalten, welchem diese Fähigkeit in weitgehendem Maße fehlte. Ob dies Fehlen ein voll-



ständiges war, oder ob es sich bei längerer Zucht und bei erneuter Dauerbebrütung auf Agarröhrchen oder in Bouillonkultur wieder rückgängig machen lassen würde, muß dahingestellt bleiben. Ebenso wie diese Frage für die im Originalausstriche auftretenden *Paracoli* stets eine offene bleiben wird.

## 8.

Bei der überwiegenden Mehrzahl der an typhösen oder dysenterischen Darmaffektionen erkrankten Personen tritt, wie erwähnt, auf den Original-Endo-Ausstrichen des Stuhles eine helle Form des *B. coli* auf. Die Mehrzahl der überhaupt zur Untersuchung gelangenden Individuen besäße demnach fakultativ defektive *Coli*-Individualstämme. Nun ist die Zahl der auf den Platten jeweils auftretenden hellen Kolonien recht verschieden. Bald beherrschen sie das Bild vollkommen, bald finden sie sich im gleichen Verhältnis mit rotwachsenden *Coli* gemischt, bald treten sie stark hinter dem normalen *Coli* zurück, nur als wenige helle Kolonien zwischen zahlreichen roten wachsend. Zieht man mit in Betracht, daß die ganzen jeweils zur Untersuchung gelangenden Proben ja nur ein minimaler Bruchteil des gesamten Darminhaltes sind, so darf man damit rechnen, daß noch viel mehr Personen während einer Infektion hellwachsende *Coli* besitzen, ohne daß die üblichen Methoden davon Kenntnis geben.

Unter den Umständen drängt sich einem die Vermutung auf, daß theoretisch vielleicht jeder Stamm des *B. coli* unter geeigneten Umständen in bezug auf die Laktosevergärung defektiv werden kann. Nur graduell, in bezug auf die Leichtigkeit, mit der diese Umwandlung ausgelöst wird, werden sich dann die einzelnen Stämme voneinander unterscheiden.

Daß solche graduelle Verschiedenheiten tatsächlich vorhanden sind, läßt sich erschließen aus der graduellen Verschiedenheit in der Neigung der defektiven Formen, durch Knopfmodifikation wieder zur normalen Form zurückzuschlagen. Dies bezieht sich auf die Zahl der Knospen, welche von den einzelnen Kolonien ausgebildet werden können, wie auf die Zeit, nach welcher die Knospenbildung einsetzt. So ist es bekannt, daß es *B. coli mutabile*-Stämme gibt, welche nicht mehr als ein oder zwei, meist große Knötchen auf jeder Kolonie ausbilden, und andererseits auch solche, bei welchen zahlreiche, meist kleine Knötchen so dicht nebeneinander stehen, daß die ganze Oberfläche der Mutterkolonie gleichmäßig dadurch gehöckert erscheint. Und schließlich gibt es auch solche, welche beiderlei Knospenbildungen nebeneinander aufweisen. Der Grund für ein solches Verhalten ist unschwer zu erschließen. Je größer die Differenz in der Wachstumsenergie zwischen Mutterkolonie und Tochterkolonie ist, desto stärker wird auch das Knötchen über die Ausgangskolonie hinauswuchern. Die Wachstumsenergie ist aber weitgehend eine Funktion der fermentativen Leistungsfähigkeit. Man darf also wohl in den Bakterien der großen Knötchen solche mit wesentlich weitgehenderer, in denen der kleinen Knötchen solche mit nur wenig weiter gehender Gärfähigkeit erblicken, als es diejenigen der Ausgangsform waren. Die Zahl der Knötchen auf der anderen Seite bietet einen Hinweis auf den Grad der Neigung, fermentativ reicher ausgerüstete Pleonten abzuspalten, sowie auf den Grad der Hemmungswirkung, den das einmal erfolgte Auftreten solcher Pleonten auf die weitere Abspaltung gelegentlich zu haben scheint.

Die Zeit, die durchschnittlich vergeht, bis die Knötchen auftreten, beträgt 3—5 Tage. Schon bei früherer Gelegenheit konnte ich aber eine gewisse Labilität in dieser Beziehung beobachten. Inzwischen ist es mir gelungen, bei einem Stamme, der schon im Originalausstriche nach 2 Tagen Knospenbildung zeigte, nach wiederholter Ueberimpfung auf Eiweißnährböden die ersten Andeutungen von der Bildung exzentrischer, roter Knötchen auf Endo-Agar bereits nach 11 Stunden festzustellen. Auf der anderen Seite konnte ich schon damals von einem Stamme berichten, der erst nach 11 Tagen begann, seine Knospen zu entwickeln. Inzwischen bin ich auch auf einen gestoßen, der erst nach 14-tägiger Bebrütung mit der Knospenbildung begann. Weiter gehört hierher auch der oben beschriebene Fall, bei dem die Knospenbildung in einer Erscheinungsform ganz unterblieb. Bei ihm ist eben der Zeitpunkt der Knospenbildung, wenn man so will, so weit hinausgeschoben, daß das Experiment ihn nicht mehr fassen konnte. Endlich wissen wir ja bei keinem Paracoli, ob er nicht doch noch einmal zur Milchsüßgärung übergeht und Knospen laktosespaltender Deszendenten ausbildet.

Analog dürfte es sich auch in bezug auf den Uebergang von der laktosespaltenden zu der die Laktose nicht spaltenden Form verhalten. Ist aber die Neigung schon bei sicher zu solchem Uebergang befähigten Stämmen, also bei der *mutatum*-Form von *B. coli mutabile*-Stämmen, sehr gering, die Laktosevergärung wieder aufzugeben, so ist das bei anderen natürlich in noch weit höherem Maße der Fall, und die Zahl der anscheinend unwandelbaren *B. coli commune*-Stämme ist noch größer, als die der *B. paracoli*.

So erscheint es mir nach dem Gesagten nicht mehr möglich, eine systematische Grenze zwischen den stets milchsüßgärenden, den fakultativ defektiven, aber reversibeln, und den anscheinend irreversibeln, laktosedefektiven Coli-Stämmen aufrechtzuerhalten.

Alle diese mutmaßlichen Rassen erscheinen vielmehr als ein Komplex durch zahllose Abstufungen miteinander verbundener Formen, die nur graduell voneinander abweichen und sich unter Umständen auch wechselweise ineinander überführen lassen.

Es ist daher vielleicht besser, eine systematische Aufspaltung ganz zu unterlassen und grundsätzlich die auf den Originalplatten einem entgegentretenden Formen des *B. coli* nur als Pleonten anzusehen, die bei manchen Klonen leichter, bei anderen schwerer, oder wohl auch gar nicht zu erlangen sind, bei denen aber dann, wenn es darauf einmal ankommt, unter allen Umständen zunächst der Versuch einer Umzüchtung gemacht werden muß, um Sicherheit über ihre artliche Zugehörigkeit zu erlangen.

Danach würde das *B. coli* also auftreten können in einer *commune*-Form, die Milchsüßgärung vergärt, in einer *mutabile*-Form, welche Milchsüßgärung nicht vergärt, aber durch Knopfmodifikation die *commune*-Form abspalten kann, in einer *paracoli*-Form, welche Milchsüßgärung nicht vergärt und diesen Charakter fest beibehält, und in zahlreichen anderen Formen, für die besondere Namen je nach Bedarf eingeführt werden können.

Diese Erwägungen über die Natur der defektiven Stämme scheinen zunächst nur ein theoretisches Interesse zu besitzen. Das trifft rein sachlich vielleicht auch zu. Aber die Ueberlegungen, welche zur Auffassung der defektiven Stämme als Pleonten normaler Stämme geführt

haben, können in ihrer weiteren Verfolgung doch auch für die Praxis gelegentlich etwas Interessantes an den Tag bringen.

## 9.

Die Tatsache, daß aus manchen anscheinend völlig normalen *B. coli commune* sich experimentell Pleonten ableiten lassen, welche den Milchzucker nicht vergären können, und ferner die Vermutung, daß dies sogar unter geeigneten Bedingungen für alle *B. coli*-Stämme gilt, führt naturgemäß auch zu einer abweichenden Beurteilung des Wandlungsvorganges selbst. Solange die Studien am *B. coli mutabile* stets von der den Milchzucker nicht vergärenden Form ausgingen, war es selbstverständlich, daß man im Auftreten der Gärfähigkeit für Milchzucker einen progressiven Vorgang erblicken konnte. Wohl wurde auch eine abweichende Ansicht ausgesprochen, in dem Gefühle, daß die Erwerbung neuer Gärfähigkeiten, die Ausbildung neuer Fermente, eigentlich eine sehr tiefgreifende Weiterentwicklung sei, und als solche vielleicht einmal zufällig, sicher aber nicht geradezu gesetzmäßig auftreten könne. Die theoretisch daraus gefolgerte Ansicht aber, der scheinbare Neuerwerb der Milchzuckervergärung sei nichts anderes als die Regeneration einer verloren gegangenen Fähigkeit, fand wenig Gegenliebe.

Jetzt, wo es gelungen ist, auch aus völlig unverdächtigen Normalstämmen des *B. coli*, wie z. B. dem Nissleschen Heilstamm, defektive, Milchzucker nicht vergärende Pleonten abzuspalten, wird der Anschauung vom progressiven Charakter der *Coli mutabile-mutatum* Umwandlung die letzte tatsächliche Unterlage entzogen.

Man darf also nicht mehr die *mutabile-mutatum*-Wandlung unter dem Namen einer „Erwerbsmodifikation“ als einen prinzipiell abweichenden Vorgang anderen, häufiger beobachteten Wandlungen, den „Verlustmodifikationen“, gegenüberstellen, bei welchen irgendeine Fähigkeit verloren geht, wie etwa die Fähigkeit der Sporenbildung bei der Umzüchtung *sporogenes-asporus* des *B. anthracis* durch den Einfluß hoher Temperaturen. Wohl sind die beiden Vorgänge selbst miteinander nicht zu homologisieren, denn tatsächlich findet ja bei der einen eine Vermehrung, bei der anderen eine Verminderung der biologischen Eigenschaften statt. Beide Vorgänge sind aber nur herausgerissene Stücke aus Modifikationsfolgen, und diese Gesamtvorgänge sind einander völlig homolog. In beiden Fällen sind es ungünstige Verhältnisse des Milieus, hier hohe Temperatur, dort wohl Ansammlung von Stoffwechselprodukten, welche den Verlust einer Eigenschaft, hier der Sporenbildung, dort der Laktosespaltung, zur Folge hatten. In beiden Fällen gelingt es, hier durch fortgesetzte Zucht bei normaler Temperatur, dort durch Zucht auf Laktosenährböden, den Verlust wieder wettzumachen.

Rein deskriptiv kann man diese beiden Veränderungen beliebig aufeinander folgen lassen. Und die historische Entwicklung der Kenntnisse läßt es von selbst verstehen, daß die Reihenfolge auch in der Tat verschieden gelesen worden ist. Die Natur der Ausgangsform war es eben, welche die Deutungsweise des Zyklus bestimmte.

Eine biologische Erklärung muß sich aber von solchen rein äußeren Beweggründen frei zu machen suchen. Und weiter nichts als eine Aeüßerlichkeit ist es, wenn man bei der Beurteilung des *B. coli mutabile* eben von der *mutabile*-Form, bei derjenigen des *B. an-*

*thracis* von der *sporogenes*-Form ausging, statt von der *mutatum*- beziehungsweise *asporus*-Form. Wie beim *B. anthracis* hat man also den Zyklus der Wandelbarkeit in bezug auf die Milchsäurevergärung beim *B. coli* vielleicht am besten so zu lesen, daß er beginnt mit einer Verlustmodifikation, wenn man will, einer Degeneration, und daß dieser Verlust wieder ausgeglichen wird durch eine scheinbare Erwerbsmodifikation, die den Charakter einer Regeneration trägt.

Daß dieser Standpunkt überhaupt noch einer Diskussion bedarf, ist im Grunde überraschend. Die Zahl der bekannten Fälle, in denen Bakterien durch Zucht unter ungünstigen Verhältnissen gewisse Gärungsfähigkeiten verlieren, ist gar nicht so gering, ganz gleichgültig, ob es sich dabei um die Folgen von Giften im Nährboden, von Dauerzucht ohne Weiterimpfung, oder von Zucht in Mischkulturen handelt.

## 10.

Als Erreger ruhrartiger Darmerkrankungen sind wir gewöhnt, nach der Art der Zuckervergärung, 2 verschiedene Haupttypen zu unterscheiden, nämlich das Mannit nicht spaltende *B. dysenteriae* oder Shiga-Krusesche Bakterium der giftreichen Form, und die als *B. pseudodysenteriae* zusammengefaßten Bakterien der giftarmen Form, die sämtlich Mannit zu vergären imstande sind.

Zur Unterscheidung der verschiedenen Pseudodysenterie-Bakterien dient in der Praxis weiterhin wieder ihr Verhalten gewissen Zuckern gegenüber, nämlich auf Maltose- und Saccharose-Lackmusagar. Und zwar waren schon längere Zeit folgende Kombinationen in der Veränderung des Nährbodens bekannt: Maltose blau, Saccharose blau = Typ Y (Hiss); Maltose rot, Saccharose blau = Typ Flexner; Maltose blau, Saccharose rot = Typ Strong. Kürzlich ist dann noch die letzte mögliche Kombination beschrieben worden, nämlich: Maltose rot, Saccharose rot = Typ V (Aronson).

Auf die letztgenannte Form wurde mein Interesse gelenkt, nachdem es in einem Falle gelungen war, bei demselben Patienten erst ein Bakterium vom Typ V und weiterhin auch eines des sonst als Ruhrerreger vornehmlich in Betracht kommenden Typ Y aus dem Stuhl zu isolieren.

Dieser Fall bot äußerlich also bakteriologisch das Bild einer Doppelinfektion mit einem relativ häufigen Krankheitserreger (Pseudodysenterie Typ Y) und mit einem anscheinend recht seltenen Verwandten desselben (Typ V). Aber noch ein anderer Gesichtspunkt drängte sich sofort in den Vordergrund, nämlich die Möglichkeit, daß nur eines der beiden Bakterien der Krankheitserreger, und das andere ausschließlich sein Begleiter sei. Daß als Krankheitserreger in diesem Fall das Y-Bakter anzusprechen war, lag auf der Hand. Es blieb also der Verdacht bestehen, daß das V-Bakterium nur ein Begleitbakter sei.

Um sich über die Natur der fünften Pseudodysenterieform ein Bild machen zu können, sollten die 4 im Laufe der Zeit aufgefundenen Stämme derselben, zu denen noch ein Ableger des Originalstammes von Aronson hinzutrat, auf ihre Wandelbarkeit geprüft werden<sup>1)</sup>. Dabei stellte es sich nun heraus, daß nach gut 1/4-jährigem Stehen der Agarkultur bei Zimmer-

1) Anderweitige Inanspruchnahme schob die systematische Bearbeitung der Form hinaus, und meine dienstliche Verwendung an einem anderen Orte brach sie schließlich ab, so daß es nur Bruchstücke sind, die mitgeteilt werden können.

temperatur das Leben in den Kulturen kaum gelitten hatte, während bei echten Y-Bakterien in dieser Zeit schon ein großer Teil zugrunde gegangen zu sein pflegt. Sodann wies einer der Stämme eine Aufspaltung auf, nämlich in eine auf Endo-Agar hellwachsende und in eine ihn rötende Form, die diesen Charakter auch bei Weiterimpfung beibehielt. Die Agglutinierbarkeit durch Y-Serum war bei sämtlichen Stämmen völlig erhalten geblieben. Bei dem aufgespaltenen war sie aber merkwürdigerweise auf die rotwachsende Komponente beschränkt, während die helle Form sich nicht agglutinieren ließ.

Die Aufspaltung in zwei in bezug auf die Laktosevergärung verschiedene Deszendenten ist ein Charakterzug, der außerordentlich an die Verhältnisse bei *B. coli* gemahnt. Wie sie erfolgte, läßt sich natürlich nicht mehr erkennen, da sie bereits als vollendete Tatsache festgestellt wurde; Knospenbildung konnte ich auch bei monatelanger Beobachtung der Platten bei Zimmertemperatur nicht beobachten.

Nimmt man nun auf Grund der früher gewonnenen Anschauungen einmal an, die laktosevergärende Form sei die Ausgangsform, die nicht vergärende aber der Deszendent, so bereitet eine Deutung viel geringere Schwierigkeiten. Eine Bakterienform, welche Laktose, Maltose, Saccharose und Mannit vergärt und sich auch im Wachstum wie *B. coli* verhält, wird man ohne weiteres als *B. coli* ansprechen dürfen, auch dann, wenn sie aus Traubenzucker kein Gas bildet. Und daß eine solche Coli-Form, die Dextrose ohne Gasbildung vergärt, gelegentlich auch die Laktosespaltung verlieren kann, braucht nicht zu überraschen. Ist doch gerade bei der Besprechung des Zusammenhanges zwischen *B. coli* und *B. coli mutabile* eines Stammes gedacht worden, der kein Gas aus Traubenzucker bildete und anfänglich auf Endo-Nährboden hell wuchs, um dann durch Knopfmodifikation zur Laktosespaltung überzugehen; und bei diesem Stamme wären Bedenken gegen seine Zugehörigkeit zu *B. coli* gar nicht aufgekommen. Da liegt es denn doch sehr nahe, auch den fraglichen Stamm des V-Dysenteriebaktors für einen defektiven Coli-Stamm zu halten, der allerdings mehr zum Charakter des Paracoli hinneigt, als zum *Coli mutabile*. Auch mit den anderen früheren Erfahrungen, welche das Auftreten laktosedefektiver Coli-Formen betrafen, ließ sich das Verhalten des V-Bakteriums vereinigen. Auch dieses ist während einer Y-Ruhrinfektion aufgetreten, und die Symbiose mit einem pathogenen Bakter hatte sich schon im Reagenzglasversuche als eine Ursache zum Defektivwerden herausgestellt.

So stehen also von biologischer Seite kaum Bedenken der Auffassung entgegen, daß es sich in diesem Falle bei einem, dem Aronsonschen Bakterium sonst völlig gleichenden Bakter nicht um ein Ruhrbakter handelt, sondern nur um einen atypischen Coli-Pleonten. Das legt es nahe, wenigstens in diesem Stamme des sogenannten *B. pseudodysenteriae* V Aronson ein *B. coli* zu erblicken, das als Leitbakterium für das Vorhandensein eines echten Ruhrerregers, hier also des *B. pseudodysenteriae* Y Hiss, dienen kann.

Schwierigkeiten gegenüber dieser Anschauung kann man in dem serologischen Verhalten erblicken. Gerade der Ausdruck „Leitbakterium“, den ich vorhin gebrauchte, gibt aber einen Hinweis, wie hier ein Anschluß an Bekanntes möglich ist. Als Leitbakterien werden unzweifelhaft anderen Arten angehörende Stämme bezeichnet, die sich serologisch genau so verhalten, wie pathogene Arten, mit denen sie gemeinsam auf-

treten, und auf deren Vorhandensein sie durch ihre Gegenwart schließen lassen. Gerade aus dem Kreise des *B. coli* spielen solche Leitbakterien eine große Rolle, sind sie doch als *B. paradysenteriae*, als gasbildende Ruhrbazillen, ebenfalls schon als Krankheitserreger angesprochen worden. Wie diese induzierte Agglutinierbarkeit zustande kommt, ist bislang noch nicht aufgeklärt. Sicher ist jedenfalls, daß sie oft ganz erstaunlich fest induziert ist, und auch ich konnte nach  $\frac{3}{4}$  Jahren bei einem solchen Stamme, der biologisch ein normaler *B. coli* war, noch eine starke Paragglutinierbarkeit durch Y-Serum beobachten. So glaube ich auch, bei einem Aronson-Bakterium die Agglutinierbarkeit als induziert betrachten zu sollen; eigene Versuche, ob es sich wirklich um Paragglutination handele, konnte ich leider nicht anstellen. Sehr wünschenswert wäre es, wenn diese von anderer Seite noch ausgeführt werden könnten.

Nur beiläufig erwähnt sei, daß die hier für das V-Bakterium gemachten Ueberlegungen auch für manche jetzt als Flexner-Bakterien bezeichneten Stämme in Betracht kommen dürften. Begegnet ist mir bereits 1 Fall, bei dem Y- und Flexner-Bakterien nebeneinander vorkamen.

Eine sorgfältige Prüfung derartiger zweifelhafter Fälle ist um so notwendiger, als natürlich auch mit einer Labilität des *B. pseudodysenteriae* gegenüber Maltose und Saccharose, vielleicht auch in bezug auf die Gasbildung aus Dextrose, gerechnet werden muß. So gelang es mir in mehreren Fällen, Ruhrbakterien, welche anfänglich nach dem Typ Flexner wuchsen, durch nochmaliges Ausstreichen in eine nach dem Typ Y wachsende Form umzuzüchten, ohne daß sich Anhaltspunkte für die Annahme einer anfänglich vorhandenen Verunreinigung des Stammes ergaben. Ob hierher auch die Beobachtung gerechnet werden darf, daß ein von Herrn Dr. Baerthlein dem Laboratorium in Spa überwiesener Dahlem-Stamm bei der biologischen Prüfung wie ein *B. pseudodysenteriae* Y wuchs, muß dahingestellt bleiben. Daß von *B. pseudodysenteriae* Y Pleonten, die Maltose und Saccharose vergären können, erzüchtbar sind, ist bereits angegeben worden (Schröter und Gutjahr 1911).

## 11.

Die Bezeichnung Adaptation oder Anpassung für das Auftreten von physiologisch abweichenden Pleonten bei Bakterien, derart, daß im Anschluß an eine fortdauernde Zucht auf einem bestimmten Stoffe die Fähigkeit sich herausbildet, diesen Stoff zu zersetzen, kann leicht zu unrichtigen Vorstellungen führen. Anpassung besagt, daß die in Erscheinung tretende Veränderung kausal durch eine Aenderung des Milieus bedingt wird. Wenn man im Rahmen der auf die Vergärung des Milchzuckers durch das *B. coli* sich beziehenden Fragen bleiben will, wäre also das Auftreten von Knötchen milchzuckervergärender Coli-Bakterien auf den Kolonien eines Milchzucker nicht vergärenden Pleonten verursacht durch die dargebotene milchzuckerhaltige Nahrung.

Diese Auffassung, die wohl nicht nur sprachlich zu vermuten ist, sondern auch sachlich wohl allgemein als zutreffend angenommen werden dürfte, läßt sich mit den früher angeführten Beobachtungen nicht vereinbaren.

Bei dem beschriebenen Coli-Stamme, dessen ursprünglich von der Originalplatte isolierte mutabile-Form nach langdauernder Bebrütung

des Agarröhrchens die *paracoli*-Form abspaltete, hatten sich während dieser Dauerbebrütung auch Formen abgespalten, welche auf der Endo-Platte rot wuchsen. Hier war also die Gärfähigkeit für Laktose gewonnen oder, wenn man will, regeneriert worden, ohne daß der Stamm irgendwie mit Laktose in Berührung gekommen war. Immerhin kann man in diesem Falle noch die Behauptung aufstellen, die laktosevergärende Form sei bereits in der Kolonie, welche zur Beimpfung des Agarröhrchens verwendet wurde, vorhanden gewesen und nur beim Abstechen übersehen worden.

Anders liegen die Verhältnisse bei dem erwähnten Stamme des angeblichen fünften Dysenterieerregers. Hier hatte das Röhrchen früher als Stammkultur für eine biologische Prüfung gedient, und dabei war keinerlei Milchzuckervergärung vorgekommen. Nach dem langen Stehen aber war ein Teil der Bakterien zu Laktosespaltern geworden. Demnach kann tatsächlich eine Gärfähigkeit erworben werden, ohne daß der betreffende Zucker, auf den sie sich bezieht, überhaupt vorhanden ist. Von einem ursächlichen Zusammenhange darf man daher in gewissen Fällen jedenfalls sicher nicht sprechen, wenn auf einem abweichenden Nährboden plötzlich ein abweichendes, diesem Nährboden besser „angepaßtes“ physiologisches Verhalten auftritt.

Kurz ausgedrückt, liegt die Sache also so, daß ein Milchzucker spaltender *B. coli* bei langer Zucht auf einem indifferenten Substrate (Nähragar) einen laktosedefektiven Pleonten abspalten kann (Reversion der Knopfmodifikation des *B. coli mutabile*), und daß ein Milchzucker nicht vergärender *Coli*-Stamm unter den gleichen Bedingungen einen Milchzuckervergärer abspalten kann (der angeführte Fall des Typ V Aronson). In beiden Fällen ist die Zahl der auftretenden Individuen des neuen Typus auf dem indifferenten Nährboden gering.

Es liegt nun auf der Hand, daß dann, wenn kein indifferenten Nährboden verwendet wird, sondern einer, welcher der neuauftretenden Form besonders günstige Bedingungen bietet, diese neue Form üppig gedeihen und sich in einem Maße vermehren kann, daß sie dem Beschauer sofort auffallen wird, auch schon dann, wenn nicht besondere Indikatoren das noch erleichtern. Schließlich sind es bei einem *Coli mutabile* doch im Verhältnis zur Gesamtzahl der die Kolonie bildenden einzelnen Bakterien nur außerordentlich wenige, manchmal nur 1 oder 2 Individuen auf viele Millionen, welche die Milchzuckervergärung gewinnen, sich deshalb auf Endo-Agar stark vermehren können und so zu Stammvätern von Knötchen werden. Sollte man diese wenigen Individuen für sich allein herausfangen, so müßte man schon ein ganz besonderes Glück haben, wenn man sie auf einer Ausstrichplatte isolieren und nach ihrer Vermehrung am Charakter der Kolonie erkennen wollte. So aber liegen für das entgegengesetzte Extrem, bei den die Laktose nicht vergärenden Bakterien, tatsächlich die Verhältnisse. Wir kennen noch nicht die Bedingungen, unter denen die laktosedefektiven Bakterien besser wachsen, als die Laktosespalter, wo sie mithin als Knötchenbildner hervortreten könnten. Wir finden sie also sehr selten, und nur da, wo sie schon in relativ sehr großer Anzahl aufgetreten sind.

Unter diesen Umständen kann man mithin sagen, daß der Ausdruck „Adaptation“ stets mit einem gewissen Vorbehalte zu verstehen ist. In Wirklichkeit handelt es sich dabei nicht um eine Erzeugung neuer Formen durch den Nährboden, sondern nur um eine Anreicherung derselben.

Das Interessante aber ist, daß unter den uns im einzelnen unbekannten Bedingungen in einer alternden Kultur, und wir pflegen in diesem Falle als solche Bedingungen die Anhäufung von Stoffwechselprodukten der Bakterien selbst in Anspruch zu nehmen, die physiologischen Fähigkeiten der Bakterien sich weitgehend und obendrein bis zu einem gewissen Grade erblich konstant verändern können, ohne daß irgendeine bestimmte Richtung, zunächst wenigstens, dabei zu erkennen wäre.

## 12.

In dem plötzlich erfolgenden Auftreten der Gärfähigkeit für Milchzucker bei laktosedefektiven Coli-Stämmen dokumentiert sich unzweifelhaft eine tiefgreifende Aenderung in der fermentativen Leistungsfähigkeit dieses Stammes. Da die bakteriologische Praxis auf die Art des Verhaltens gegenüber dem Milchzucker sehr großen Wert legt, gewinnt man leicht den Eindruck, als ob bei der Knopfmodifikation auf Endo-Agar aus einem fermentativ unvollkommen begabten Pleonten ein fermentativ „vollkommen“ begabter abgeleitet worden sei. Und unter diesem Eindruck kann man leicht zu der Voraussetzung gelangen, daß dieser vollkommene Stamm nun auch anderen Zuckerarten gegenüber, soweit sie überhaupt von *B. coli* angegriffen werden können, gleichzeitig mit der Erwerbung der Milchzuckergärfähigkeit gärfähig geworden sei.

Schon die Tatsache, daß die Milchzuckergärfähigkeit nichts Einheitliches ist, sondern beim gleichen Klon graduell schwanken kann, läßt diese Anschauung fraglich erscheinen. Klarheit kann man aber ohne weiteres sich mit leichter Mühe verschaffen, wenn man direkt eine Prüfung auf anderen Zuckerarten anstellt. Nun ist für die Praxis am auffälligsten das verschiedene Verhalten des *B. coli* gegenüber dem Rohrzucker, der von einem Teil der Coli-Stämme nicht angegriffen, von einem anderen Teile dagegen vergoren wird. Dabei bieten sich ähnliche Verhältnisse wie beim *B. coli mutabile* dar. Wie nämlich dort die Milchzuckervergärung unter dem Bilde der Knopfmodifikation auftritt, so entstehen auch auf dem Rohrzuckernährboden auf Kolonien des nicht vergärenden *B. coli imperfectum* Knötchen der saccharosespaltenden „perfectum“-Form. Diese Analogie des biologischen Verhaltens legt es nahe, das Verhalten des *B. coli* gegenüber der Laktose und der Saccharose nebeneinander zu verfolgen.

Um festzustellen, ob irgendein innerer Zusammenhang zwischen der Laktose- und Saccharosevergärung bestehe, wurden von den im Laufe der Zeit isolierten Stämmen des *B. coli mutabile* 12 Stämme beliebig ausgewählt. Von diesen wurde nebeneinander die laktosedefektive und die laktosevergärende Form auf Saccharoseagar ausgestrichen. Dabei stellte sich heraus, daß sich beide Pleonten stets vollkommen gleichartig verhielten. Von den 12 Stämmen besaßen 2 von Anfang an die Gärfähigkeit für Rohrzucker, 1 gewann sie nach 2 Tagen und behielt sie dann bei, 7 bildeten zum Teil erst nach mehr als 2 Wochen vereinzelte, erblich konstante saccharosevergärende Knötchen, und 2 blieben dauernd der Saccharose gegenüber inaktiv.

Daraus geht also hervor, daß das Verhalten gegenüber dem Rohrzucker gänzlich unabhängig ist von demjenigen gegenüber dem Milchzucker. Der Laktose gegenüber reversibel defektive Coli-Stämme, denn solche wurden ja nur untersucht, können, gleichartig in ihrer defektiven, wie in ihrer vergärenden Form, gegenüber der Saccharose ir-



reversibel defektiv, reversibel defektiv oder gärfähig sein. Erwähnt sei, daß der früher beschriebene Stamm Coli Nissle in seiner commune-, wie seiner paracoli-Form Saccharose nicht anzugreifen vermochte.

Das ist für die Unterscheidung fermentativ abweichender Stämme pathogener Bakterien einerseits und apathogener Bakterien andererseits, die auf den üblichen wenigen Zuckernährböden, welche in der Praxis angewendet werden, gleichartig wachsen, von großer Bedeutung.

Es ist bekannt, daß die hier an *B. coli* beobachteten Verhältnisse in ähnlicher Weise auch für pathogene Arten gelten. So bildet beispielsweise das *B. typhi* unter anderem auf Rhamnose, Dulcitol und Arabinose, die es gewöhnlich nicht vergären kann, vergärende Knötchen, und zwar treten diese Gärfähigkeiten alle unabhängig voneinander auf, so daß von einem Typhusklon nicht weniger als 8 Pleonten sich ableiten lassen, die entweder diese 3 Zucker nicht, oder nur 1 davon, oder 2 in verschiedener Kombination, oder sämtliche vergären (Saisawa 1913).

Da nun in der Natur, bzw. im Originalstuhlausstrich, im allgemeinen die pathogenen Bakterien Zuckern gegenüber weniger, die apathogenen stärker begabt sind, so gibt die Prüfung auf zahlreichen verschiedenen Zuckernährböden, die von dem „typischen“ pathogenen Bakter, also, besser ausgedrückt, seinem unter den natürlichen Bedingungen am häufigsten auftretenden und mithin wohl am besten angepaßten Pleonten, nicht angegriffen werden, eine Handhabe zur Diagnose. Denn die Wahrscheinlichkeit, daß ein im Originalausstrich festgestelltes, verdächtiges Bakter gerade einem besonderen Pleonten einer pathogenen Art angehört, der durch größere Gärfähigkeit von dem „typischen“ abweicht, nimmt ab mit der Zahl der Gärfähigkeiten, auf die er geprüft wurde, und in denen er sich vom „Typus“ unterscheidet. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Beeinflussung der Resistenz von Versuchstieren gegenüber Infektionskrankheiten.

[Aus dem Vet.-pathologischen Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. W. Frei).]

Von Dr. Walter Pfenninger, Zürich.

Bei der Untersuchung der Resistenz eines Organismus gegen Infektionskrankheiten kann man auch so vorgehen, daß man den betreffenden Organismus einfach infiziert und nach Einverleibung der auf ihren Einfluß zu prüfenden Substanzen beobachtet, wie er sich nunmehr gegenüber der Infektion verhält. Man wird dann sehen, daß er entweder gar nicht erkrankt, oder daß der Tod verzögert wird, oder daß die Krankheit umgekehrt einen heftigeren und rascheren Verlauf nimmt. Im ersteren Falle sprechen wir von einer Erhöhung, im zweiten Falle von einer Erniedrigung der Resistenz.

Wir wissen bei diesem Verfahren allerdings nicht, auf welchen der 3 Resistenzfaktoren (Antikörper, Leukozyten oder übrige Körperzellen) die verwendete Substanz ihre Wirkung ausgeübt hat. Dieser Weg ist

also ein rein empirischer, indem er nur ein gewisses Gesamtergebnis, aber keine Erklärung gibt, auf welchen inneren Vorgängen und Änderungen die erzielte Wirkung beruht. Wir werden in der Folge der Kürze halber den Ausdruck Gesamteristenz verwenden und uns dabei vor Augen halten, daß dieser Gesamteristenz eine Reihe von Einzelfaktoren zugrunde liegt.

Ueber die Gesamteristenz und deren Beeinflussung durch die verschiedensten Faktoren existiert eine sehr umfangreiche Literatur. Im allgemeinen wird die Gesamteristenz des Organismus herabgesetzt durch Hunger, Ueberanstrengung, Kälte, Hitze, ferner durch eine Reihe von Giften, insbesondere bei chronischer Zufuhr derselben, kurz also bei Ueberschreitung der physiologischen Grenzen der Bedingungen, unter welchen der Körper lebt.

Panisset<sup>1)</sup> zeigte, daß infizierte Mäuse, die in mit Fäulnisgasen verunreinigter Luft zu atmen gezwungen waren, schneller starben als die Kontrolltiere in frischer Luft; besonders ungünstig wirkte die Alkaleszenz der Luft. Nach Thomas<sup>2)</sup> ist die Disposition zu Erkrankung an Cholera unter dem Einfluß großer Alkoholdosen etwa um das 4- bis 6-fache erhöht. Gleichermassen gibt es auch Faktoren, welche die Gesamteristenz erhöhen. Von den physikalischen Einwirkungen ist insbesondere die Wärme untersucht worden. Es wurde festgestellt, daß mäßige Erwärmung des Körpers, z. B. auch heiße Bäder, die Resistenz erhöhen. Dann hat man gefunden, daß das Fieber eine Heilreaktion ist, insofern nämlich, als chronisch erwärmte Organismen die Infektionen leichter überstehen. Zur Entscheidung der Frage, was beim Fieber die Resistenz erhöht, die reine Temperaturerhöhung oder der gesteigerte Eiweißzerfall bzw. Eiweißzerfallsprodukte, können folgende Beobachtungen und Ueberlegungen herangezogen werden: Walther<sup>3)</sup> hat gefunden, daß der Sachs-Aronsohn'sche Hirnstich, der eine Erhöhung der Körpertemperatur ohne den fieberhaft gesteigerten Eiweißzerfall zur Folge hat, die Resistenz gegen Infektionskrankheiten erhöht. Andererseits gibt es aber auch Tatsachen, die dafür sprechen, daß der Eiweißzerfall oder seine Produkte ebenfalls günstig wirken. Nach Kraus u. Mazza<sup>4)</sup> hat bei Typhuskranken die intravenöse Zufuhr von abgetöteten Bakterienarten bzw. deren Produkten erhebliche Besserung zur Folge. Lüdke<sup>5)</sup> beobachtete, daß intravenöse Injektionen von Deuteroalbumose eine Erhöhung der Resistenz gegen Typhus zur Folge haben. In der Humanchirurgie werden intraperitoneale Serum- und Nukleinsäureinjektionen angewendet zur Verhütung der Infektionsgefahr bei Laparotomien.

Es sei hier gleich bemerkt, daß bei den Serienversuchen über Gesamteristenz sich die Tatsache ergab, daß sich bezüglich der Resistenz sehr starke individuelle Schwankungen geltend machten bei Tieren von gleichem Gewicht, die unter gleichen Bedingungen gehalten worden waren. Eine starke individuelle Verschiedenheit in bezug auf die Antikörperbildung hebt auch Reiter bei seinen Salvarsanexperimenten hervor; sicher ist, daß es Tiere gibt mit erhöhtem Gehalt an Normalantikörpern, die für eine Produktion derselben prädisponiert sind.

Die Beeinflussung der Gesamteristenz bzw. der Resistenzfaktoren spielt in der praktischen Veterinärmedizin eine hervorragende Rolle. Es ist anzunehmen, daß irgendein bei einer Infektionskrankheit verwendetes Mittel in größerem oder geringerem Grade auch die Resistenz beeinflusst, möglicherweise auch direkt auf die Parasiten einwirkt. Insofern ist also jede medikamentöse Therapie auch eine Chemotherapie. Wenn z. B. bei der Pneumonie Jodkali oder Alkohol günstig wirken, indem sie die Intensität der Krankheit vermindern und die Krankheitsdauer abkürzen, so verdanken sie das zu einem guten Teil jedenfalls ihrer Fähigkeit, die Antikörperproduktion des Organismus zu stimulieren, die

1) Panisset, Rev. génér. de méd. vét. 1913. No. 249. p. 506.

2) Thomas, Arch. d. exp. Pharm. Bd. 32. 1892.

3) Walther, Wretsch. 1890. No. 37—40.

4) Kraus u. Mazza, Deutsch. med. Wochenschr. 1914. No. 31.

5) Lüdke, Die Behandlung des Abdominaltyphus mit intravenösen Injektionen von Albumosen. (München. med. Wochenschr. 1915. No. 10.)

Phagozytose zu begünstigen (wie das ja von Alkohol direkt experimentell festgestellt ist), und möglicherweise auch ihrer Fähigkeit, die Körperzellen überhaupt bis zu einem gewissen Grade gegen die Bakteriengifte gefeit zu machen.

Versuch 1 zeigt die Beeinflussung einer Infektion von Schweine-rotlauf bei weißen Mäusen durch die Anionen- und Kationenreihe von Salzen, die wir bei unseren Phagozytoseversuchen verwendet haben<sup>1)</sup>. Die Reihenfolge der Salze nach der Begünstigung bzw. Resistenz-erhöhung geordnet, stimmt ziemlich gut überein mit der Beeinflussung der Phagozytose durch die betreffenden Salze. Dieses Resultat ist insofern bemerkenswert, als bekanntlich bei der Rotlaufinfektion eine starke Phagozytose zu konstatieren ist und dieser Art Abwehrvorrichtung hierbei offenbar die Hauptrolle zufällt.

Wollten wir also bei Rotlauf eine erfolgreiche Chemotherapie anwenden, was in Anbetracht der guten Erfolge der Serumtherapie allerdings nur rein wissenschaftliches Interesse hätte, so müßten wir eine Kombination stark phagozytosebefördernder Substanzen wählen, vielleicht am besten in Verbindung mit einem gegen *B. rhusiopathiae* wirksamen Desinfektionsmittel.

Tabelle 1.

Salzapplikation in 1-proz. wässriger Lösung subkutan, 0,2 ccm pro Maus (= 0,002) Bazillenemulsion: 4 dreitägige Rotlaufkulturen (Agarschief) in 8 ccm Bouillon zerrieben; davon pro Tier 0,2 ccm subkutan injiziert.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Salzapplikation	Exitus	nach Std.	durchschnittlich nach Std.
Serie 1 { Tier 1 " 2 " 3	1. März 6 h p.m.	NaNO <sub>3</sub> 1. März 5 h 20 p.m.	4. März 6 h p.m.	72	87,7
			5. " 3 h p.m.	93	
			5. " 8 h p.m.	98	
Serie 2 { Tier 4 " 5 " 6	dgl.	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> dgl.	4. März 1 h a.m.	55	67,7
			4. " 3 h p.m.	69	
			5. " 1 h a.m.	79	
Serie 3 { Tier 7 " 8 " 9	dgl.	NaJ dgl.	4. März 5 h p.m.	71	72,3
			4. " 7 h p.m.	73	
			4. " 7 h p.m.	73	
Serie 4 { Tier 10 " 11 " 12	dgl.	NaBr dgl.	4. März 9 h p.m.	75	81,3
			5. " 2 h a.m.	80	
			5. " 11 h a.m.	89	
Serie 5 { Tier 13 " 14 " 15 " 16 " 17	dgl.	Kontrollen kein Salz dgl.	4. März 4 h p.m.	46	62,2
			4. " 9 h a.m.	63	
			4. " 9 h a.m.	63	
			4. " 10 h a.m.	64	
			4. " 11 h p.m.	75	

Die für die Anionen nach der Resistenzbegünstigung geordnete Reihe lautet:  
NO<sub>3</sub>, Br, Cl, J, SO<sub>4</sub>, Kontrollen.

Exitus nach Stunden: 88, 81, 78, 72, 68, 66.

Zum Vergleiche sei hier die Reihe der Phagozytosebegünstigung angeführt:

Br > NO<sub>3</sub> > Cl > J > Kontrolle > SO<sub>4</sub>.

1) Ueber den Einfluß von Salzlösungen auf das phagozytäre Vermögen der Leukozyten. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1916. No. 21.)

Tabelle 2.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Salzapplikation	Exitus	nach Std.n.	durchschnitt- lich nachStd.n.	
Serie 6 {	Tier 18 " 19 " 20	1. März 5 h 50 p. m.	NaCl	4. März 4 h p. m.	70	78,3
			1. März 5 h 10 p. m.	4. " 6 h p. m.	72	
				5. " 3 h p. m.	93	
Serie 7 {	Tier 21 " 22 " 23	dgl.	CaCl <sub>2</sub> dgl.	4. März 12 h a. m.	66	81,3
				5. " 10 h a. m.	88	
				5. " 12 h a. m.	90	
Serie 8 {	Tier 24 " 25 " 26	dgl.	MgCl <sub>2</sub> dgl.	4. März 11 h a. m.	65	82,7
				5. " 4 h p. m.	94	
				5. " 11 h a. m.	89	
Serie 9 {	Tier 27 " 28 " 29	dgl.	CuCl <sub>2</sub> dgl.	2. März 11 h a. m.	17	57,3
				4. " 12 h a. m.	66	
				5. " 1 h a. m.	89	
Serie 10 {	Tier 30 " 31 " 32	dgl.	AuCl <sub>3</sub> dgl.	4. März 3 h p. m.	69	76
				4. " 10 h p. m.	76	
				5. " 5 h a. m.	83	

Die Reihenfolge der Kationen im Gesamtresistenzversuch ist diese:

Mg, Ca, Na, Au, Kontrolle, Cu.

Die Reihe, der Phagozytosebegünstigung nach geordnet, heißt:

Ca > Mg > NH<sub>4</sub> > Na > Kontrolle.

Wir haben bereits früher auf die große Ähnlichkeit dieser Ionenreihen mit den Ionenreihen der Kolloidbeeinflussung hingewiesen (l. c.).

Den Einfluß einer einmaligen subkutanen Injektion von Terpenen auf eine Anthraxinfektion bei Mäusen zeigt folgender Versuch.

Tabelle 3.

Infektion mit  $\frac{1}{100}$  Oese einer eintägigen Anthraxkultur pro Tier subkutan. Terpene in  $\frac{1}{5000}$ -Lösungen intraperitoneal; 0,1 pro Tier.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Applikation des Terpens	Exitus	nach Stdn.	durchschnitt- lich nach Stdn.	
Serie 1 {	Tier 1 " 2 " 3	13. Juni 6 h 30 p. m.	Cymol	15. Juni 6 h a. m.	36	66,3
			13. Juni 5 h 50 p. m.	15. " 7 h p. m.	49	
				18. " 12 h a. m.	114	
Serie 2 {	Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Pulegon dgl.	14. Juni 7 h p. m.	25	37,6
				15. " 7 h a. m.	37	
				15. " 9 h p. m.	51	
Serie 3 {	Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Pinen dgl.	14. Juni 4 h p. m.	22	22,6
				14. " 7 h a. m.	13	
				15. " 3 h a. m.	33	
Serie 4 {	Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Terpentineol dgl.	14. Juni 9 h p. m.	27	40,6
				15. " 1 h a. m.	31	
				16. " 10 h a. m.	63	
Serie 5 {	Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Kontrollen dgl.	14. Juni 5 h p. m.	23	29,3
				15. " 6 h a. m.	36	
				14. " 11 h p. m.	29	

Ein großer Effekt auf die Infektion macht sich von keiner der verwendeten Substanzen geltend, immerhin scheint Cymol doch eine schwach resistenzerhöhende Wirkung ausgeübt zu haben, was nach den vorausgegangenen Untersuchungen über die starke phagozytosebefördernde und die Agglutininproduktion steigernde Fähigkeit der Substanz erklärlich wäre.

Tabelle 4.

Infektion mit  $\frac{1}{100}$  Oese Anthrax pro Tier subkutan. Applikation der Terpene in 0,5-proz. Lösungen; 0,1 pro Tier subkutan.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Applikation des Terpens	Exitus	nach Stdn.	durchschnittlich nach Stdn.
Serie 1 { Tier 1 " 2 " 3	11. Juli 10 h a. m.	11. Juli 10 h 30 a. m. Cymol	12. Juli 8 h p. m.	34	30,3
			12. " 9 h p. m.	23	
			12. " 8 h p. m.	34	
Serie 2 { Tier 4 " 5 " 6	dgl.	dgl. Carvon	12. Juli 9 h a. m.	23	29,3
			12. " 5 h p. m.	31	
			12. " 8 h p. m.	34	
Serie 3 { Tier 7 " 8 " 9	dgl.	dgl. Menthen	12. Juli 1 h p. m.	27	27,7
			12. " 1 h p. m.	27	
			12. " 3 h p. m.	29	
Serie 4 { Tier 10 " 11 " 12	dgl.	dgl. Cineol	12. Juli 6 h p. m.	32	33,7
			12. " 7 h p. m.	33	
			12. " 10 h p. m.	36	
Serie 5 { Tier 13 " 14 " 15	dgl.	dgl. Ortho-Kresol	12. Juli 6 h a. m.	20	27,3
			12. " 3 h p. m.	29	
			12. " 7 h p. m.	33	
Serie 6 { Tier 16 " 17 " 18	dgl.	dgl. Meta-Kresol	12. Juli 11 h a. m.	25	27
			12. " 1 h p. m.	27	
			12. " 3 h p. m.	29	
Serie 7 { Tier 19 " 20 " 21	dgl.	dgl. Para-Kresol	12. Juli 10 h a. m.	24	29
			12. " 5 h p. m.	31	
			12. " 6 h p. m.	32	
Serie 8 { Tier 22 " 23 " 24	dgl.	dgl. Kontrollen (kein Terpen)	12. Juli 9 h a. m.	23	25,9
			12. " 1 h p. m.	27	
			12. " 1 h p. m.	27	

Nach Tabelle 4 hätten Cineol und Cymol einen deutlich erhöhenden Effekt auf die Gesamtresistenz gegenüber der Milzbrandinfektion ausgeübt.

In einem folgenden Versuch wurde der Einfluß der Terpene auf eine Trypanosomeninfektion bei Mäusen eruiert (*Trypanosoma equiperdum*).

Tabelle 5.

Infektion von weißen Mäusen mit gleichen Dosen einer frisch bereiteten Aufschwemmung von *Trypanosoma equiperdum* in physiolog. NaCl subkutan. Terpene in 0,5-proz. Lösung; pro Tier 0,2 subkutan.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Applikation des Terpens	Exitus	nach Stdn.	durchschnittlich nach Stdn.
Serie 1 { Tier 1 " 2 " 3	25. Juli 3 h p. m.	Cymol simultan mit Infektion	31. Juli 3 h p. m.	144	150
			31. " 12 h p. m.	153	
			31. " 12 h p. m.	153	
Serie 2 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Carvon dgl.	31. Juli 12 h p. m.	153	161
			31. " 12 h p. m.	153	
			1. Aug. 12 h p. m.	177	
Serie 3 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Cineol dgl.	30. Juli 12 h p. m.	129	145
			31. " 12 h p. m.	153	
			31. " 12 h p. m.	153	
Serie 4 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Meta-Kresol dgl.	1. Aug. 11 h a. m.	164	170,3
			1. " 3 h p. m.	170	
			1. " 12 h p. m.	170	
Serie 5 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Kontrollen dgl.	31. Juli 12 h a. m.	161	150
			31. " 5 h p. m.	146	
			1. " 10 h a. m.	163	

Es zeigt sich, daß die Terpene so viel wie gar keinen Einfluß geltend machten. Das m-Kresol scheint einen leicht begünstigenden Einfluß zu haben, was wahrscheinlich seiner Desinfektionskraft zuzuschreiben ist.

Die Phagozytoseversuche (l. c.) haben gezeigt, daß Narkotika und Anästhetika eine stark begünstigende Wirkung auf die Phagozytose ausüben. Metschnikoff hat angenommen, daß das Tetanustoxin durch die Leukozyten zerstört werde. Diese Ansicht ist in der Folge als irrig erkannt worden. Die folgenden Versuche zeigen den Einfluß einiger Narkotika und Anästhetika auf die Tetanusinfektion bei Mäusen. Die Wirkung könnte hierbei eine doppelte sein, erstens könnte am Orte der Injektion das Narkotikum oder Anästhetikum als solches eine Wirkung des Tetanustoxins auf die peripheren örtlichen Nervenendapparate und eine zentripetale Fortleitung desselben verhindern und zweitens eine Phagozytose anregen, welche die an der Infektionsstelle vorhandenen Keime vernichten müßte.

Tabelle 6.

Tetanusaufschwemmung: 1 ccm einer 2-tägigen Tetanusbouillonkultur in 20 ccm physiologischer NaCl-Lösung; davon 0,1 ccm pro Tier subkutan am Rücken injiziert. Lösungen der Narkotika 1:400; davon 0,2 ccm pro Tier an der Infektionsstelle.

Serie und No. des Tieres	Applikation der Substanz	Infektion	Exitus	nach Stdn.	durchschnittlich nach Stdn.
Serie 1 { Tier 1 " 2 " 3	2. Aug. 4 h p. m. Chloroform	simultan; nach der Substanzapplikation	3. Aug. 9 h a. m.	17	17,6
			3. " 9 h a. m.	17	
			3. " 11 h a. m.	19	
Serie 2 { Tier 1 " 2 " 3	2. Aug. 4 h p. m. Paraldehyd	dgl.	2. Aug. 10 h p. m.	6	13,3
			3. " 8 h a. m.	16	
			3. " 10 h a. m.	18	
Serie 3 { Tier 1 " 2 " 3	2. Aug. 4 h p. m. Chloralhydrat	dgl.	3. Aug. 7 h a. m.	15	18,3
			3. " 9 h a. m.	17	
			3. " 3 h p. m.	23	
Serie 4 { Tier 1 " 2 " 3	2. Aug. 4 h p. m. Anästhesin	dgl.	3. Aug. 8 h a. m.	16	17,6
			3. " 10 h a. m.	18	
			3. " 11 h a. m.	19	
Serie 5 { Tier 1 " 2 " 3	2. Aug. 4 h p. m. Novocain	dgl.	3. Aug. 9 h a. m.	17	18,6
			3. " 10 h a. m.	18	
			3. " 1 h p. m.	21	
Serie 6 { Tier 1 " 2 " 3	2. Aug. 4 h p. m. Urethan	dgl.	3. Aug. 8 h a. m.	16	20,0
			3. " 9 h a. m.	17	
			3. " 7 h p. m.	27	
Serie 7 { Tier 1 " 2 " 3	2. Aug. 4 h p. m. Kontrollen	dgl.	3. Aug. 8 h a. m.	16	18,0
			3. " 9 h a. m.	17	
			3. " 1 h p. m.	21	

Der Versuch ergibt, daß sämtliche verwendeten Substanzen ohne irgendwelchen Einfluß auf die Tetanusinfektion sind, wenigstens in den verwendeten Konzentrationen von 0,0005 pro 10 g Tier.

Um eine eventuell wirksame Konzentration zu eruieren, wurde eine Verdünnungsreihe des Chloroforms in einer weiteren Versuchsserie auf den Einfluß auf die Tetanusinfektion bei Mäusen geprüft. Es wurden zunächst die betreffenden Lösungen injiziert und 10 Minuten später das Tier an der gleichen Stelle subkutan infiziert. Als größte Konzentration wurde eine wäßrige Lösung von 1:50 verwendet und davon pro Tier 0,2 ccm appliziert, das würde entsprechen einer Menge von 0,4 ccm pro Kilogramm Körpergewicht (eine Dosis von 0,2 ccm pro Kilogramm genügt beim Pferd zur Erzeugung einer ziemlich tiefen Narkose).

Der Versuch zeigt, daß keine der verwendeten Dosen einen wesentlich verzögernden, geschweige denn einen schützenden Einfluß auf die Tetanusinfektion haben würde. Die Narkotika vermögen also offenbar weder die Ausbreitung des Giftes zu verhindern noch eine gegen Tetanus wirksame Phagozytose zu provozieren.

Tabelle 7.

Infektion mit Tetanusaufschwemmung aus 1-tägiger Bouillonkultur, verdünnt 1:100 mit physiolog. NaCl; davon pro Tier 0,1 subkutan.  
Chloroforminjektion 0,2 der betreffenden Verdünnung subkutan.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Chloroform-applikation	Exitus	nach Stdn.	durchschnittlich nach Stdn.
Serie 1 { Tier 1 " 2	8. Aug. 3 h p. m.	Chloroform 1:50 simultan mit der Infektion	8. Aug. 11 h p. m. 9. " 4 h p. m.	8 25	16,5
Serie 2 { Tier 1 " 2	dgl.	Chloroform 1:500 dgl.	8. Aug. 10 h p. m. 8. " 12 h p. m.	7 9	8
Serie 3 { Tier 1 " 2	dgl.	Chloroform 1:1000 dgl.	8. Aug. 10 h p. m. 9. " 10 h a. m.	7 19	13
Serie 4 { Tier 1 " 2	dgl.	Chloroform 1:10000 dgl.	8. Aug. 9 h p. m. 9. " 10 h a. m.	6 19	12,5
Serie 5 { Tier 1 " 2	dgl.	Chloroform 1:100000 dgl.	8. Aug. 9 h p. m. 9. " 4 h p. m.	6 25	15,5
Serie 6 { Tier 1 " 2	dgl.	kein Chloroform Kontrollen	8. Aug. 9 h p. m. 8. " 11 h p. m.	6 8	7

Ueber den Einfluß der Darmfäulnisprodukte, die auf ihren Effekt auf die Phagozytose bereits untersucht wurden (l. c.), auf die Gesamtresistenz gibt der folgende Versuch Ausschluß. Als Versuchstiere dienten weiße Mäuse, die mit Schweinerotlauf infiziert wurden. Die Lösungen der Substanzen wurden in der Verdünnung 1:400 appliziert und zwar 0,2 ccm pro Tier. Die Applikation geschah simultan mit der Infektion.

Tabelle 8.

Infektion mit 0,1 ccm pro Tier einer 1:20 verdünnten 1-tägigen Rotlaufbouillonkultur, subkutan.  
Subkutanapplikation der Substanz, simultan mit der Infektion.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Applikation der Substanz	Exitus	nach Stdn.	durchschnittlich nach Stdn.
Serie 1 { Tier 1 " 2 " 3	4. Aug. 4 h p. m.	Indol $0,2 \times \frac{1}{400}$	8. Aug. 5 h a. m. 8. " 8 h p. m. 9. " 7 h a. m.	85 100 111	98,6
Serie 2 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Skatol $0,2 \times \frac{1}{400}$	7. Aug. 10 h p. m. 8. " 7 h p. m. 8. " 11 h p. m.	78 99 103	90
Serie 3 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Aethylamin $0,2 \times \frac{1}{400}$	7. Aug. 10 h p. m. 9. " 11 h a. m. 8. " 4 h p. m.	78 115 96	96,1
Serie 4 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Pentamethylen- diamin $0,2 \times \frac{1}{400}$	8. Aug. 4 h a. m. 8. " 10 h a. m. 8. " 12 h a. m.	84 90 92	88,6
Serie 5 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Cholin $0,2 \times \frac{1}{400}$	8. Aug. 10 h a. m. 8. " 11 h p. m. 9. " 10 h a. m.	90 103 114	102,3
Serie 6 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Kontrollen	8. Aug. 8 h p. m. 9. " 5 h a. m. 9. " 3 h p. m.	100 109 119	109,3

Die Tabelle zeigt, daß sämtliche verwendeten Substanzen den Verlauf der Infektion zu beschleunigen vermögen und namentlich, wie zu erwarten, am meisten das Pentamethyldiamin, das, wie wir gesehen haben, auf die Phagozytose noch in sehr hohen Verdünnungen eine starke Hemmung ausübt. Gewissermaßen überraschend ist, daß das Kadaverin die Resistenz am stärksten herabsetzt, trotzdem es gemeinhin, d. h. klinisch, als nicht, oder nur wenig giftig erkannt wurde. Es besteht also auch hier eine gewisse Uebereinstimmung in der Beeinflussung der Gesamtresistenz und der Phagozytose durch dieselbe Substanz. Das Resultat kann nicht überraschen, da, wie wir schon einmal darauf aufmerksam gemacht haben, bei der Rotlaufinfektion offenbar die Phagozytose als Abwehrvorrichtung von Bedeutung ist und der Einfluß einer Substanz auf die Phagozytose bis zu einem gewissen Grade auf die Beeinflussung der Gesamtresistenz von Bedeutung sein dürfte.

Diese Ergebnisse sind in Uebereinstimmung mit den Resultaten von Panisset, wonach die Resistenz von Versuchstieren, die in der Nähe von fauligem Material gehalten wurden und die offenbar Fäulnisgase einatmeten, ebenfalls herabgesetzt war. Die Beeinflussung der Resistenz des Organismus gegen Infektionen durch Fäulnisprodukte ist von ziemlich großer praktischer Bedeutung. Einmal ist hier durch unsere Versuche und durch die von Panisset gezeigt, daß tatsächlich ein Zusammenhang besteht zwischen Erkrankungsmöglichkeit einerseits und Reinlichkeit und hygienischer Lebenshaltung bzw. Unreinlichkeit in höchstem Grade andererseits. Schon längst ist in den Lehrbüchern der Hygiene darauf hingewiesen worden, daß die Ansammlung von Dünger in den Ställen einen ungünstigen Einfluß auf die Gesundheit der Tiere hat. Von einem praktischen Tierarzt wissen wir, daß er großen Wert darauf legt, daß nach Kastrationen bei Kälbern die Jauchegruben während einer gewissen Zeit nicht geöffnet werden. Ferner allgemein bekannt ist die Gefährlichkeit von Wunden, die mit fauligen Produkten verunreinigt wurden. Offenbar besteht die Gefahr hier nicht nur in der Einfuhr einer großen Zahl von Mikroorganismen, sondern auch in der Herabsetzung der Phagozytosefähigkeit, welche die weißen Blutkörperchen durch die begleitenden Fäulnisprodukte erfahren.

Tabelle 9.

Infektion mit 0,2 ccm pro Maus einer Rotlaufaufschwemmung subkutan.

Applikation der Substanz in  $\frac{1}{10}$ -Molekularsuspensionen Pepton 1-proz. 0,1 ccm pro Maus, simultan mit der Infektion.

Serie und No. der Tiere	Infektion	Applikation der Substanz	Exitus	nach Stdn.	durchschnittlich nach Stdn.
Serie 1	Tier 1	9. März 6 h p. m. Glykokoll pro Tier 0,00075	11. März 5 h p. m.	47	51,25
	" 2		11. " 9 h p. m.	51	
	" 3		12. " 2 h a. m.	56	
Serie 2	Tier 1	dgl. $\alpha$ -Alanin pro Tier 0,00089	11. März 9 h p. m.	51	55
	" 2		12. " 3 h a. m.	57	
	" 3		12. " 3 h a. m.	57	
Serie 3	Tier 1	dgl. $\alpha$ -Amidoisovaleriansäure pro Tier 0,00117	11. März 12 h p. m.	54	55,3
	" 2		12. " 2 h p. m.	56	
	" 3		12. " 2 h a. m.	56	
Serie 4	Tier 1	dgl. Leuzin pro Tier 0,00131	12. März 9 h a. m.	63	66
	" 2		12. " 6 h a. m.	60	
	" 3		12. " 9 h p. m.	75	
Serie 5	Tier 1	dgl. Tyrosin pro Tier 0,00182	12. März 2 h a. m.	56	62,3
	" 2		12. " 12 h a. m.	66	
	" 3		12. " 11 h a. m.	65	
Serie 6	Tier 1	dgl. Pepton pro Tier 0,0001	11. März 3 h p. m.	45	55
	" 2		12. " 10 h a. m.	64	
	" 3		12. " 2 h a. m.	56	
Serie 7	Tier 1	dgl. Kontrollen	11. März 4 h p. m.	46	60,25
	" 2		12. " 1 h a. m.	55	
	" 3		12. " 4 h p. m.	70	
	" 4		12. " 4 h p. m.	70	



Der Tatsache, daß die Abwehrvorrichtungen des Organismus durch Fäulnisprodukte ungünstig beeinflußt werden, die Infektion also begünstigt wird, stellen wir die andere ebenfalls experimentell gestützte Tatsache gegenüber, wonach gewisse Fäulnisprodukte antibakteriell bzw. bakterizid wirken. Von vielen pathogenen Mikroorganismen ist bekannt, daß sie in faulenden Kadavern in kürzerer oder längerer Zeit zugrunde gehen, d. h. daß bei der Zersetzung der Körpersubstanz, speziell der Eiweißkörper, antibakterielle Substanzen entstehen (Conradi, Stein, Bohtz u. a.). Es ist noch zu untersuchen, ob die resistenzerabsetzenden und antibakteriellen Substanzen überhaupt identisch sind. Es ist sehr wohl möglich, daß eine Verbindung einerseits bakteriengiftig, andererseits in einer anderen Konzentration phagozytosebegünstigend sein kann. Im übrigen sind die Begleitsubstanzen in einem faulenden Kadaver jedenfalls qualitativ und quantitativ anders als im lebenden Organismus.

In diesem Zusammenhang wollen wir auch das Problem der Resistenzerhöhung durch das Fieber erwähnen. Tatsache ist, daß durch Temperaturerhöhung der Verlauf der Infektion günstig beeinflußt wird; Tatsache ist ebenfalls der gesteigerte Eiweißzerfall beim Infektionsfieber; es ist noch zu untersuchen, in welcher Weise die Eiweißzerfallsprodukte auf die Widerstandsfähigkeit des fiebernden Organismus einwirken, ob sie antibakteriell wirken, oder ob sie die Phagozytose begünstigen oder hemmen. Einen kleinen Beitrag zu dieser Frage bilden die folgenden Experimente:

Der Einfluß einer anderen Reihe von Eiweißabbauprodukten auf die Rotlaufinfektion wurde im nächsten Versuch eruiert. Die Substanzen wurden in  $\frac{1}{10}$ -MolekularemulSIONen (Pepton 1-proz.) verwendet und subkutan eingespritzt.

Es ist anzunehmen, daß die Aminosäuren gerade so, wie ihr physiologischer Effekt und ihre physiologische Bedeutung — denn nicht alle wirken giftig — auch auf die Resistenz einen verschiedenen Einfluß ausüben. Es ist bekannt, daß man Tiere mit einem Gemisch von Aminosäure im Stickstoffgleichgewicht erhalten und sogar N-Ansatz erzielen kann, so lange wenigstens, als in dem Gemisch Tryptophan vorhanden ist. Fehlt dieses, so gehen die Tiere zugrunde. Im obigen Versuch scheinen die Aminosäuren, ausgenommen Leuzin und Tyrosin, einen resistenzvermindernden Effekt zu haben.

Ueber günstige Wirkungen von Eiweißzerfallsprodukten bei Infektionskrankheiten ist eingangs berichtet worden. Hingegen ist die Wirkung der einzelnen Aminosäuren auf Phagozytose und andere Resistenzfaktoren einerseits und auf das Bakterienwachstum andererseits noch nicht untersucht. Als einen Spezialfall der Zufuhr von Eiweißkörpern haben wir die Einverleibung artfremder, nichtspezifischer Normalseren bei Infektionskrankheiten anzusehen. Therapeutisch ist artfremdes Serum bei Infektionskrankheiten schon zur Verwendung gekommen. So berichtet R. Roubitschek<sup>1)</sup> über eine Reihe von Flecktyphusfällen, die er mit gutem Erfolge mit subkutanen Injektionen von normalem Pferdeserum behandelt hat und wobei er ein Zurückgehen der Mortalität von 30 auf 8 Proz. konstatieren konnte.

Wir haben in einigen Versuchen ebenfalls den Einfluß artfremder Seren auf infizierte Mäuse geprüft. Der eine Versuch wurde an Mäusen vorgenommen, die mit Anthrax infiziert waren und darauf teils subkutane, teils intraperitoneale Applikationen von Rinderserum erhielten. Es zeigte sich, daß die Resistenz sämtlicher mit Rinderserum behandelter Tiere herabgesetzt wurde. In gleicher Weise wurde der Einfluß von aktivem Pferdeserum auf die mit Anthrax infizierten Mäuse eruiert. Die nachfolgende Tabelle 10 stellt diesen Versuch dar.

Es ergibt sich hieraus, daß die intraperitoneale Injektion von 0,01 ccm Serum einen deutlich verzögernden Verlauf der Infektion herbeigeführt hat. Auch die subkutane Injektion derselben Dosis scheint einen noch begünstigenden Effekt erzielt zu haben. Offenbar kommt es darauf an, eine genau ausprobierte Quantität zur Anwendung zu bringen, um die günstige Wirkung zu erreichen. Wir erklären uns den günstigen Effekt dieser Injektion aktiven Serums durch Komplementwirkung. Nehmen wir an, daß die komplexen Serumabwehrvorrichtungen des infizierten Organismus eine Schwächung erfahren, bzw. daß die Produktion des thermolabilen Teiles derselben vermindert sei, so werden die komplexen Antikörper in dem Moment, da ihnen von außen die labile Komponente, d. h. geeignetes Komplement in der richtigen Menge zugeführt wird, wieder in vollem Umfang ihre Abwehrtätigkeit aufnehmen können. Diesen Effekt erreichen wir durch die Injektion frischen Pferdenormalserums, welches Komplement in ausreichendem Maße enthält. Daß diese Erklärung sehr wohl den Tatsachen entsprechen kann, beweisen Versuche verschiedener Forscher, welche bei schweren Schädigungen des Organismus eine Verminderung der Komplementproduktion desselben beobachtet haben. Metalnikoff<sup>2)</sup> zeigte, daß bei chronischen Eiterungen gewisse hämolytische Komplemente aus dem Serum verschwinden; dieselbe Wahrnehmung haben

1) R. Roubitschek, Wien. klin. Wochenschr. 1915. S. 706.

2) Metalnikoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. 1901.

Tabelle 10.

Infektion mit  $\frac{1}{200}$  Oese Anthrax (1-tägige Agarschiefkultur) subkutan. Applikation von Pferdeserum. 15' nach Infektion, subkutan und intraperitoneal.

Serie und No. des Tieres	Infektion	Serum-applikation	Exitus	nach Stdn.	durchschnittlich nach Stdn.
Serie 1 { Tier 1 " 2 " 3	8. Juni 10 h a. m.	0,1 Serum subkutan	9. Juni 12 h p. m.	38	61,3
			9. " 12 h p. m.	38	
			12. " 10 h p. m.	108	
Serie 2 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	0,1 Serum intraperitoneal	9. Juni 8 h p. m.	34	59,3
			9. " 11 h p. m.	37	
			12. " 9 h p. m.	107	
Serie 3 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	0,01 Serum subkutan	9. Juni 7 h p. m.	33	72,6
			10. " 1 h p. m.	51	
			13. " 12 h p. m.	134	
Serie 4 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	0,01 Serum intraperitoneal	10. Juni 7 h a. m.	45	88,6
			12. " 11 h p. m.	109	
			13. " 2 h a. m.	112	
Serie 5 { Tier 1 " 2 " 3	dgl.	Kein Serum Kontrollen	10. Juni 9 h a. m.	47	64,3
			11. " 6 h a. m.	68	
			11. " 4 h p. m.	78	

Abbot und Bergay<sup>1)</sup> bei chronischen Alkoholvergiftungen gemacht. Trommsdorff fand ebenso die Regeneration der Komplemente bei resistenzschwachen Tieren meist wesentlich herabgesetzt, und Schütze und Scheller<sup>2)</sup> konnten bei Kaninchen, die mit Schweineseuche infiziert und mit Ziegenblutkörperchen vorbehandelt waren, eine starke Herabsetzung und teilweise eine vollständige Aufhebung der Regeneration hämolytischer Komplemente nachweisen.

Die Versuche über die Beeinflussbarkeit der Gesamtresistenz haben gezeigt, daß eine Beeinflussung derselben sowohl im negativen wie im positiven Sinne durch verschiedene Substanzen möglich ist, und daß, bis zu einem gewissen Grade wenigstens, Parallelen bestehen zwischen der Beeinflussbarkeit der die Gesamtresistenz zusammensetzenden Einzelfaktoren, nämlich der Agglutinine und Phagozytose einerseits und der Beeinflussbarkeit der Gesamtresistenz des Organismus andererseits.

Die Gesamtresistenz des Organismus ist eine zusammengesetzte Größe; sie besteht aus der Summe und absoluten Größe der einzelnen Resistenzfaktoren. Wenn wir demnach den Einfluß, den irgendeine Substanz auf die Gesamtresistenz ausübt, analysieren wollen, müssen wir uns vergegenwärtigen, daß ihre Wirkung sich zunächst erstrecken kann auf die Gesamtheit bzw. auf einzelne oder mehrere der Resistenzfaktoren und im ferneren auf die Mikroorganismen direkt. Wir haben unsere Untersuchungen ausgedehnt speziell auf zwei der Resistenzfaktoren, d. h. auf die Beeinflussbarkeit von 2 Abwehrvorrichtungen<sup>3)</sup>, und haben gefunden, daß einzelne Salze auf die Agglutininproduktion einen geringen Einfluß haben, während sie die Phagozytose der Bakterien durch die Leukozyten in hohem Grade zu begünstigen vermögen, wie z. B. von  $\text{CaCl}_2$  gezeigt wurde; andererseits übt  $\text{SrCl}_2$  auf die Phagozytose einen deutlich hemmenden Einfluß aus, während es die Agglutininproduktion in geringem Grade zu erhöhen imstande ist. Die Mehrzahl der Substanzen, z. B.  $\text{NaBr}$  und Cymol, vermögen sowohl auf die Phagozytose,

1) Abbot u. Bergay, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.

2) Schütze u. Scheller, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36. 1901.

3) Pfenninger, Zur Kenntnis der Phagozytose und künstlich erzeugten therapeutischen Leukozytose. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1916. No. 2 [l. c.]; Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. 58. 1916). Ferner Pfenninger, Ueber die Beeinflussung der Agglutininproduktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917.)

als auch auf die Agglutininproduktion einen deutlich befördernden Einfluß auszuüben. Dieselbe Substanz vermag also, einen oder mehrere der Abwehrfaktoren günstig zu beeinflussen, während sie einen anderen zu hemmen imstande ist.

Für den Endeffekt, d. h. für die Beeinflussung der Gesamtresistenz, kommt in Betracht, in welchem Verhältnis die Intensitäten der Wirkungen auf die einzelnen Komponenten zueinander stehen, oder mit anderen Worten, der Effekt auf die Gesamtresistenz resultiert aus der algebraischen Summe der absoluten Größe und Intensität der Beeinflussung der Einzelfaktoren. Ueberwiegt die Summe der günstigen Einflüsse diejenige der hemmenden, so wird daraus für die Gesamtresistenz eine Steigerung, im umgekehrten Falle eine Verminderung resultieren.

Hierbei ist aber in Betracht zu ziehen, daß es sehr auf die Art der Infektion ankommt, denn offenbar nicht bei allen Infektionen treten dieselben Abwehrvorrichtungen in gleichem Maße in Funktion. Nehmen wir an, daß wir es mit einer lokalen Infektion zu tun haben, z. B. mit Streptokokken-Mastitis; in diesem Falle kommen als Abwehrvorrichtungen vor allem die Leukozyten, erst in zweiter Linie wahrscheinlich die Serumantikörper in Betracht. Ein therapeutisches Mittel, welches hauptsächlich die Antikörperproduktion zu steigern vermag, wird in diesem Falle einen geringen therapeutischen Effekt erzielen, ein solches hingegen, dem eine ausgesprochen phagozytosebefördernde, positiv chemotaktische und leukozytoseerregende Wirkung zukommt, wird eine Heilung herbeizuführen imstande sein. Es ist also wesentlich, daß wir nicht nur jede Infektionskrankheit als solche, d. h. die Morphologie und Biologie ihres Erregers, genau kennen, sondern daß wir auch darüber orientiert sind, welche Abwehrvorrichtungen des infizierten Organismus bei jeder einzelnen Mikroorganismeninvasion vornehmlich in Betracht kommen.

Die Chemotherapie hat sich bisher mehr auf reine Empirie, als auf systematische Untersuchung der für die Heilung von Infektionskrankheiten in Betracht kommenden Mittel verlegt, d. h. sie hat lediglich den Effekt berücksichtigt, den die zu prüfenden Mittel auf die Gesamtresistenz der Versuchstiere ausübten, anstatt die einzelnen Verbindungen, bzw. chemischen Gruppen auf ihre Beeinflussung der Resistenzfaktoren zu prüfen und, je nach den speziellen Verhältnissen der zu bekämpfenden Infektion, bzw. nach Maßgabe der in Betracht kommenden Abwehrvorrichtungen, diese Gruppen zu verbinden und so auf synthetischem Wege zu Präparaten zu gelangen, deren Effekt auf die Gesamtresistenz man imstande wäre, vorauszusagen. Interessant ist übrigens die Tatsache, daß die Chemotherapie speziell auf dem Gebiete der Trypanosomiasen und protozoogenen Infektionskrankheiten Erfolge erzielt hat, also gerade bei solchen, bei denen über die Abwehrvorrichtungen des Organismus, welche gegen sie in Funktion treten, eigentlich am wenigsten bekannt ist. Es ist begreiflich, daß man hier nur empirisch zu therapeutisch wirksamen Präparaten gelangen konnte. Um so mehr sollte man erwarten, daß wir auf dem Gebiete der Infektionskrankheiten bakteriellen Ursprunges, auf dem bis heute nur Anfänge vorliegen, in der chemotherapeutischen Erforschung Erfolge haben sollten, gerade weil uns die Abwehrvorrichtungen, welche der Organismus gegen dieselben mobilisieren kann, zu einem guten Teile bekannt sind und wir dieselben experimentell qualitativ und quantitativ erforschen und beeinflussen können. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ein Erneuerungsverfahren für gebrauchten Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses  
Altona (Oberarzt Dr. Zeißler).]

Von Dr. med. **Joh. Zeißler** und Prof. Dr. **G. Gaßner**.

Die zurzeit bestehende Knappheit an Agar für Nährbodenzwecke hat eine Reihe von Untersuchern veranlaßt, der Frage der Regenerierung gebrauchter Agarnährböden ihre Aufmerksamkeit zuzuwenden und Methoden auszuarbeiten, die bezwecken, den Agar wiederzugewinnen und von neuem zur Nährbodenbereitung zu verwenden. In der Hauptsache handelt es sich dabei einerseits um die Wiederverwendung von Nährböden zur Impfstoffherstellung, andererseits von Nährböden für Stuhluntersuchungen, und zwar in erster Linie um Endo-Nährböden, weniger um die anderen Nährböden, wie Drigalski- und Malachitgrünagar.

Die Wiedergewinnung des Agars aus gebrauchten Impfstoffnährböden ist relativ einfach. Hier handelt es sich 1) um die Entfernung der noch anhaftenden Bakterien, 2) um die Entfernung der von den Bakterien gebildeten Stoffwechselprodukte (Säure, Alkali und anderes), 3) um den Ersatz verbrauchter, bzw. beim Regenerierungsprozeß umgesetzter oder verloren gegangener Nährsubstanzen (Eiweißstoffe, Kohlehydrate, Salze).

Bei der Regenerierung von Nährböden für Stuhluntersuchungen ist außerdem den weiteren Forderungen zu genügen, daß 4) die dem Nährboden zugesetzten besonderen Nährstoffe (Milchzucker), 5) die elektiv wirkenden, wachstumshemmenden Mittel (Kristallviolett, Malachitgrün, Metachromgelb), 6) die im Nährboden enthaltenen Indikatoren (Lackmuslösung, Fuchsin, Natriumsulfit, Kongorot, Wasserblau etc.) so weit entfernt werden, daß etwaige Reste derselben oder ihre Zersetzungsprodukte bzw. ihre Umsetzungen weder das Wachstum der Keime auf dem regenerierten Nährboden beeinträchtigen, noch das diagnostische Bild stören.

Bei allen notwendigen Operationen muß darauf geachtet werden, daß die Erstarrungsfähigkeit der Agarsubstanz nicht leidet.

Aus der Literatur über Nährbodenregeneration geht hervor, daß die Art des zu verarbeitenden Nährbodens (gewöhnlicher Nähragar, Endo-, Drigalski-, Malachitgrünagar) die Einzelheiten des Regenerationsverfahrens bestimmt. Im hiesigen Untersuchungsamt werden seit Januar dieses Jahres sämtliche Stuhluntersuchungen auf Typhus, Paratyphus und Ruhr ausschließlich mit dem von Gaßner (2, 3, 4) empfohlenen Metachromgelb - Wasserblau - Dreifarben Nährboden ausgeführt. Dieser Nährboden hat sich seit seiner Einführung in jeder Beziehung hervorragend bewährt; es sind in der Zeit vom 1. Jan. bis 15. Sept. d. J. weit mehr als 1000 Stuhlproben damit untersucht, und folgende Vorzüge gegenüber den sonst üblichen und in früheren Jahren auch

von uns benutzten oder versuchten Nährböden (Drigalski-, Malachitgrün-, Endo-, Kongorot-, Säurefuchsinagar) hervorgetreten:

1) Der Gaßnersche Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden wirkt hervorragend elektiv durch Unterdrückung sämtlicher (unerwünschten) grampositiven Keime, insbesondere auch Kokken und Sporenbildner, die z. B. auf Endo-Nährboden, Säurefuchsin-, Kongorotagar überhaupt nicht, auf den Nährböden mit Kristallviolett oder Malachitgrün nur sehr unvollkommen zurückgehalten werden.

2) Trotz der absoluten Unterdrückung der grampositiven Keime wird das Wachstum der in Betracht kommenden pathogenen Darmbakterien (Typhus, Paratyphus A und B, Ruhr Y, Flexner, insbesondere auch Ruhr Shiga-Kruse) nicht im geringsten beeinträchtigt, im Gegensatz zu der für manche dieser Keime, insbesondere Ruhr Shiga-Kruse, nicht unbedenklichen Wirkung des Kristallvioletts und vor allem der auch für die übrigen genannten Darmbakterien schädlichen Wirkung des Malachitgrüns.

3) In Uebereinstimmung mit dem guten Wachstum auf dem Gaßnerschen Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden steht die vorzügliche Agglutinierbarkeit aller auf diesem Nährboden gezüchteten pathogenen Darmbakterien, im Gegensatz zu der schlechten Agglutinierbarkeit auf gewissen Nährböden, wie Malachitgrünagar.

4) Der hohe Milchzuckergehalt des Gaßnerschen Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährbodens bedingt infolge der stärkeren Säurebildung des *Bacterium coli* eine relativ starke Wachstumshemmung desselben, so daß das Verhältnis zwischen den pathogenen Darmbakterien und *Bacterium coli* für erstere wesentlich günstiger ist, als bei den sonst üblichen Stuhlnährböden mit geringerem Milchzuckergehalt.

5) Der Farbenumschlag ist bei dem Gaßnerschen Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden besonders gut, da nicht nur *Bacterium coli*, sondern auch die pathogenen Darmbakterien sich durch Farbenumschlag kenntlich machen und aus der Umgebung hervorheben, im Gegensatz zu den sonst üblichen Stuhlnährböden.

6) Auf dem Gaßnerschen Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden ist der Farbenumschlag von Grün zu Undurchsichtig-Blau (sauer), bzw. zu Durchsichtig-Gelblich (alkalisch) überaus prägnant; unmittelbar aneinander liegende Kolonien gegensinniger Reaktion überstrahlen sich nicht gegenseitig, im Gegensatz zu manchen anderen Stuhlnährböden, insbesondere Drigalski-Agar.

7) Das Farbenbild ist auf dem Gaßnerschen Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden sowohl in Aufsicht wie in Durchsicht gut zu beobachten und vor allem auch bei künstlichem Licht ebenso gut wie in Tageslicht, im Gegensatz zum Drigalski-Agar.

8) Der fertiggestellte Gaßnersche Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden zeigt bei beliebig langer Aufbewahrung keine Farbveränderung, wie sie z. B. das Arbeiten mit Endo-Agar so erschwert.

9) Die dem Gaßnerschen Nährboden zugesetzten Stoffe Metachromgelb und Wasserblau verursachen nur geringe Kosten; infolgedessen ist der Nährboden einer der billigsten Stuhlnährböden überhaupt und ganz außerordentlich viel billiger als der Drigalski-Agar.

Bei diesen außerordentlichen Vorzügen des Gaßnerschen Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährbodens kommt für uns eine Rück-

kehr zu einem der älteren Stuhlnährböden nicht in Frage. Deshalb haben wir keine Nachprüfung eines der für diese vorgeschlagenen Regenerationsverfahren vorgenommen, sondern von vornherein versucht, für den Gaßnerschen Dreifarbenährboden ein brauchbares Erneuerungsverfahren auszuarbeiten. Auf Grund eingehender Untersuchungen empfehlen wir das folgende Verfahren:

1) Das Volumen des zu regenerierenden Nährbodens wird geschätzt (etwa 18 Drigalski-Schalen von ca. 20 cm Durchmesser entsprechen 1 Liter).

2) Für je 1 l des zu verarbeitenden, gebrauchten Nährbodens werden ca. 75 ccm 15-proz. Natronlauge in den zur Aufnahme der Drigalski-Schalen bestimmten Emailletopf vorgelegt.

3) Nach Entfernen der Deckel werden die Kulturschalen mit dem gebrauchten Nährboden ohne jede Vorbehandlung in dem hinreichend groß gewählten Emailletopf so aufgestellt, daß der bei dem folgenden Kochen flüssig werdende Nährboden nicht in den Kulturschalen bleiben kann, sondern auf den Boden des Emailletopfes abtropft und sich hier mit der vorgelegten Natronlauge vermischen muß.

4) Der so beschickte Emailletopf wird, um Zutritt von Kondenswasser aus Autoklav oder Dampftopf zu verhindern, mit Deckel verschlossen und kommt auf 2—3 Stunden in strömenden Dampf (Kochscher Dampftopf) oder 1 Stunde in gespannten Dampf (Autoklav).

5) Aus dem noch heißen Emailletopf werden die nunmehr leeren Kulturschalen entfernt, und der flüssige Nährboden in geeignete, flache Schalen in höchstens 5 cm hoher Schicht zum Erstarren ausgegossen.

6) Der erstarrte Nährboden wird in Prismen von 1—2 qcm Querschnitt zerschnitten.

7) Die Stücke werden 48 Stunden lang in strömendem Leitungswasser in einem möglichst großen Spülbecken gewässert; das Wasser muß unten zu-, oben abfließen; die Strömung muß so stark sein, daß in keinem Teile des Beckens Stagnation möglich ist.

8) Die gewässerten Nährbodenstücke werden zum Abtropfen auf einem Sieb gesammelt.

9) Die gesammelte Nährbodenmasse wird im Dampftopf verflüssigt und dann auf ca. 50° abgekühlt. Zur Klärung werden auf je 1 l Nährboden 20 g Kohle und 50 ccm Serum nacheinander zugegeben, gründlich durchgeschüttelt und die ganze Masse etwa 1/2 Stunde lang bei ca. 50° gehalten. Danach wird aufgekocht, und der Nährboden zum Absinken der ungelösten Partikel längere Zeit flüssig gehalten oder besser durch Filtrierpapier filtriert.

10) Von der so gewonnenen Agarlösung wird eine Trockensubstanzbestimmung gemacht; die Lösung wird durch Eindicken auf dem Wasserbade oder durch Zugabe von Wasser auf einen Agargehalt von 3 Proz. gebracht.

Zur Begründung der Einzelheiten und näheren Erläuterung des vorstehenden Verfahrens sei noch auf folgende Punkte hingewiesen: Das von anderen Autoren [Baerthlein (1)] vorgeschlagene Abkratzen der Stuhlplatten mit infektiösem Inhalt und die damit verbundene Gefährdung des Personals ist bei uns dadurch vermieden, daß die Stuhlplatten durch den Akt des Sterilisierens selbst automatisch von ihrem Inhalt befreit werden; das bedeutet gleichzeitig eine Arbeitersparnis.

Die Vorlage von Natronlauge im Ueberschuß ist notwendig. Besondere Versuche zeigten, daß aus dem im Gaßnerschen Metachromgelb-Wasserblau Dreifarbenährboden sehr reichlich vorhandenen Milchsucker beim Sterilisieren so viel Säure entsteht, daß ohne vorherige ausreichende Beigabe von Alkali die Erstarrungsfähigkeit des erhaltenen Agars leidet. Ein Ueberschuß von Alkali andererseits schadet nichts, weil sich bei dem nachfolgenden Waschprozeß die Reaktion des Materials automatisch auf die Reaktion des Waschwassers (Leitungswasser) einstellt. Außerdem scheint durch die Einwirkung von Hitze bei genügend starker alkalischer Reaktion eine chemische Umsetzung (Eliminierung?) des im Nährboden enthaltenen Wasserblaus, vielleicht im Verein mit dem vorhandenen Metachromgelb, stattzufinden, derart, daß durch Ansäuerung die blaue Farbe des Wasserblaus nicht mehr restituierbar ist.

Der mit Natronlaugezusatz gekochte Nährboden ist tiefbraun; er verliert beim Wässern diese Farbe so gut wie vollständig und nimmt die bekannte helle braun-graue Farbe frischen Agarnährbodens an. Nach erfolgter Klärung mittels Kohle und Serum ist auch die bis dahin zu beobachtende Trübung verschwunden.

Die biologische Prüfung des so erhaltenen, annähernd neutralen und auf schwach lackmusalkalische Reaktion eingestellten Agars zeigte zunächst, daß Coli-Bakterien sehr schwach, die pathogenen Darmbakterien: Typhus, Paratyphus A und B, Ruhr Y, Flexner, ferner Staphylokokken und verschiedene grampositive Sporenbildner kaum angedeutet, Ruhr Shiga-Kruse überhaupt nicht wuchsen. Daraus geht hervor, daß der regenerierte Agar nur noch sehr geringe Spuren von Nährsubstanzen enthält. Daß Nährstoffmangel die Ursache ist, und nicht die etwaige Anwesenheit zurückgebliebener oder gebildeter wachstumshemmender Stoffe, geht aus Kontrollversuchen hervor, in denen durch Zugabe von Fleischextrakt, Pepton und Kochsalz in üblicher Menge ein üppiges Wachstum aller eben genannten Keime erzielt wurde.

Der durch das lange Wässern erreichte, annähernd vollständige Verlust sämtlicher vorher vorhandenen Nährstoffe erscheint uns, im Gegensatz zu Kuhn und Jost (6), die ihrem Regenerationsverfahren das Erhaltenbleiben von 50 Proz. der Nährstoffe nachrühmen, nicht als Mangel, sondern als Vorzug; denn gerade das Fehlen unkontrollierbarer Nährsubstanzen muß für diagnostische Nährböden gefordert werden. Aus dem gleichen Grunde erscheinen uns auch die von Guth (5), Baerthlein (1) und Rieckenburg (8) vorgeschlagenen Regenerierungsmethoden, bei welchen der gebrauchte Nährboden überhaupt nicht oder erst nach jeder 4. bis 5. Regeneration (wenn es wohl gar nicht mehr zu umgehen ist) gewässert wird, nicht einwandfrei. Die Güte und Zuverlässigkeit diagnostischer Nährböden hängt von der richtigen Abstimmung der in ihnen enthaltenen verschiedenartigen Nährsubstanzen und Chemikalien ab. Demgegenüber ist der Verlust der Reste gebrauchter Nährstoffe das kleinere Uebel.

Vor allem dürfen dem regenerierten Agar keine Reste von Milchsucker oder anderen Zuckerarten etc. mehr anhaften, aus denen bestimmte Bakterienarten Säure bilden können. Hierauf gerichtete Versuche zeigten uns, daß ohne Einschalten eines Wässerungsprozesses derartige Reste zurückbleiben. Setzen wir aber dem nach oben stehenden Verfahren regenerierten Agar Wasserblau als Indikator für etwaige Säurebildung zu und beimpften die aus solchem Agar gegossenen Platten mit *Bacterium coli*, Typhus und verschiedenen anderen Bakterien-

arten, so trat bei keiner einzigen Bakterienart Bläuung des Nährbodens ein. Hieraus folgt, daß weder Milchzucker, noch andere aus diesem etwa abgespaltene C-Verbindungen, die als Säurequelle hätten dienen können, mehr vorhanden sind.

Weitere Versuche bezweckten den Nachweis, ob und in welchem Umfang das Metachromgelb noch im regenerierten Agar vorhanden ist. Es ergab sich, daß die durch Metachromgelb absolut unterdrückbaren grampositiven Organismen, wie Kokken und Sporenbildner, auf dem regenerierten Nährboden genau so wachsen wie *Bacterium coli* und die pathogenen Darmbakterien, d. h. ohne Zusatz neuer Nährstoffe schlecht, nach Zugabe solcher aber ausgezeichnet. Das Metachromgelb ist also ebenfalls vollständig, oder doch so weit beseitigt, daß es biologisch nicht mehr nachweisbar ist.

Auf das völlige Verschwinden des Wasserblaus während des Regenerierungsprozesses ist weiter oben schon hingewiesen; in Uebereinstimmung damit bewirkte Milchzuckerzusatz zum Nährboden eine Bläuung der *Coli*-Kolonien und anderer Säurebildner nur nach neuer Zugabe von Wasserblau.

Das Regenerat stellt also eine Agarlösung dar, die nur Spuren von Nährsubstanzen, darunter aber keine störenden C-Verbindungen (Zucker u. a.) enthält, ferner keine störenden Farbreste und keine wachstumshemmenden Stoffe. Das Erstarrungsvermögen des Agars läßt das erhaltene Regenerationsprodukt ebenfalls brauchbar erscheinen.

Nach Zugabe der üblichen Mengen von Fleischextrakt, Pepton und Kochsalz resultiert ein gewöhnlicher Nähragar, der durch Zugabe von Metachromgelb, Wasserblau und Milchzucker nach der von Gaßner (2, 3, 4) gegebenen Vorschrift zum Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden verarbeitet werden kann und einen brauchbaren differentialdiagnostischen Nährboden für Stuhluntersuchungen abgibt.

Die weitere Verarbeitung des regenerierten Agars stellt sich also folgendermaßen:

Zu 2 l regenerierten Wassers füge man

10 g NaCl,

20 g Fleischextrakt (Hefeextrakt),

20 g Pepton Witte (in ca. 50 ccm Wasser vorher gelöst).

Nach Aufkochen nochmaliges Einstellen der Reaktion auf schwach lackmusalkalisch, Absetzenlassen oder Filtrieren.

In dieser Form ist der Agar als einfacher Nähragar auch zur Impfstoffgewinnung ohne weiteres brauchbar; zur Herstellung eines Spezialnährbodens für Stuhluntersuchungen füge man nach der Originalvorschrift von Gaßner hinzu:

1) 125 ccm einer 2-proz. Lösung von Metachromgelb II RD der Akt.-Ges. für Anilinfabrikation (2 Minuten aufgekocht),

2) 175 ccm einer 1-proz. Lösung von Wasserblau 6 B extra P der Akt.-Ges. für Anilinfabrikation + 100 g Milchzucker (10 Minuten gekocht).

Nach dem Vorstehenden läßt sich der Gaßnersche Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden zu einem von neuem verwendbaren Endprodukt regenerieren, genau so, wie das von anderen Autoren für



andere Nährböden, vor allem den heute noch trotz seiner Unterlegenheit gegenüber manchen anderen, insbesondere gegenüber dem Gaßnerschen Dreifarben Nährboden vielfach verwendeten Endo-Nährboden berichtet ist. Ein Vergleich des hier vorgeschlagenen Regenerationsverfahrens mit den von anderer Seite empfohlenen Methoden läßt unser Verfahren besonders einfach und billig erscheinen, da außer Natronlauge zum Alkalisieren und Leitungswasser zum Wässern nur Tierkohle und Serum gebraucht werden.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Baerthlein, K., Ueber Regenerierung von Nährböden. (München. med. Wochenschr. 1917. S. 465.)
- 2) Gaßner, G., Der Metachromgelb - Wasserblau - Dreifarben Nährboden für Typhus-Ruhr-Untersuchungen. (Ebenda. S. 505.)
- 3) — Metachromgelb als Hemmungsmittel für Kokken und Sporenbildner und seine Verwendbarkeit für Nährböden zur Typhus-Ruhr-Diagnose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917.)
- 4) — Ein neuer Dreifarben Nährboden zur Typhus-Ruhr-Diagnose. (Ebenda. 1917.)
- 5) Guth, F., Wiederholte Benutzung von Bakteriennährböden und Ersatz von Fleisch-extrakt durch Pflanzenextrakte usw. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 52.)
- 6) Kuhn, Ph. u. Jost, M., Erneuerungsverfahren für gebrauchte Agarnährböden. (München. med. Wochenschr. 1916. No. 39.)
- 7) Mohorčič, H., Die Regenerierung des verbrauchten Endo-Agars. (Ebenda. 1915. S. 1143.)
- 8) Rieckenberg, H., Ein einfaches Verfahren, um gebrauchten Endo-Agar wiederholt verwendbar zu machen. (Ebenda. 1917. S. 542.)
- 9) Schürmann, W., Ueber Erneuerungsverfahren für gebrauchte Agarnährböden und Alkohole. (Ebenda. 1917. S. 397.) (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

### Asparagin als Stickstoffquelle für Typhusbakterien.

[Aus dem Bakteriologisch-serologischen Untersuchungsamt Altona  
(Vorstand: Oberarzt Dr. Zeißler).]

Von Prof. Dr. G. Gaßner-Rostock, zurzeit Altona.

Unsere derzeitigen Kenntnisse von dem Wert der verschiedenen Stickstoffquellen für Typhusbakterien gründen sich in der Hauptsache auf die schon eine Reihe von Jahren zurückliegenden Untersuchungen von Capaldi und Proskauer<sup>1)</sup>, nach denen *Bacterium typhi* vorzüglich auf komplizierte N-Verbindungen angewiesen ist, während *B. coli* auch einfache N-Quellen in guter Weise auszunützen vermag. So bietet Pepton eine ausgezeichnete N-Quelle für *B. typhi*, Asparagin eine solche nur für *B. coli* dar, weswegen Capaldi und Proskauer zur Differentialdiagnose zwischen Typhus und Coli 2 Nährböden empfehlen, von denen der eine Pepton, der andere Asparagin als Stickstoffquelle enthält. Aus dem gleichen Grunde wird, wie Kutscher<sup>2)</sup> erwähnt, „auch die sogenannte Normallösung von Maaßen (Arb. a. d.

1) Capaldi, A., u. Proskauer, B., Beiträge zur Kenntnis der Säurebildung bei Typhusbazillen und *Bacterium coli*. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 23. 1896. S. 452.)

2) Kutscher, K. H., Abdominaltyphus. (Kolle-Wassermann, Handb. Bd. 3. S. 731.)

Kaiserl. Gesundheits-Amt. Bd. 9 [Asparagin, Aepfelsäure, Salz, 4 Proz. Glycerin] ... als weiteres Differenzierungsmittel empfohlen. Der Typhusbacillus soll in ihr niemals deutlich sichtbar wachsen, während das *Bact. coli*, Coli-ähnliche Bakterien und der *Bac. faecalis alcaligenes* (Lösener, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheits-Amt. Bd. 11. 1895) noch deutliches Wachstum zeigen.“

Nach dem Vorstehenden kann es keinem Zweifel unterliegen, daß Asparagin für Typhusbazillen keine geeignete oder doch zum mindesten eine ungleich schlechtere N-Quelle darstellt als für *B. coli*. Untersuchungen darüber, in welchem Umfang Typhus überhaupt Asparagin anzugreifen vermag, liegen bisher nicht vor; die bisherigen Befunde lassen vielmehr jegliche Ausnutzungsmöglichkeit des Asparagins durch Typhusbazillen höchst zweifelhaft erscheinen, weshalb auch Lehmann<sup>1)</sup> in einer unlängst gegebenen Zusammenstellung der von Capaldi und Proskauer erhaltenen Ergebnisse Asparagin unter denjenigen N-Quellen aufführt, die als „ungeeignet“ für Typhusbazillen bezeichnet werden.

Die Versuchstechnik, mittels welcher Asparagin als N-Quelle für Typhusbazillen geprüft wurde, bestand bei Capaldi und Proskauer und anderen Autoren darin, wäßrigen Nährlösungen als alleinige N-Quelle Asparagin zuzusetzen, mit Typhus zu beimpfen und auf Veränderungen zu beobachten. Wachstum der Typhusbazillen läßt sich so nicht oder „kaum“ beobachten.

In den folgenden Versuchen ist Asparagin als N-Quelle festen Nährböden zugesetzt, die dann in bekannter Weise mit Aufschwemmungen der betreffenden Bakterienart beimpft wurden. Die ersten Versuche, in denen Asparagin als alleinige N-Quelle der von A. Meyer<sup>2)</sup> empfohlenen anorganischen Grundlösung + Agar zugefügt wurde, brachten kein Ergebnis, besagen jedoch deswegen nicht viel, weil auch die in entsprechender Weise mit Pepton und anderen Stickstoffverbindungen als N-Quelle bereiteten Agarplatten den Typhusbazillen ebenfalls keine geeigneten Wachstumsbedingungen boten.

Da eine Peptonbeigabe zu dem üblichen Fleischwasseragar gegenüber dem letzteren allein eine deutliche Förderung des Typhuswachstums bedingt, wurde in weiteren Versuchen Wachstum auf Fleischwasseragar mit solchem auf Fleischwasser + Asparagin verglichen. Trotz mehrfacher Wiederholung ließ sich auch hier eine wachstumsfördernde Wirkung durch Asparaginzusatz nicht feststellen.

Da der gewöhnliche Fleischwasser- oder Hefewasseragar an sich beträchtliche, für die Ernährung der Typhusbazillen geeignete N-Mengen enthält, die möglicherweise imstande sind, eine etwaige Wirkung des Asparagins zu verdecken, wurde deren Menge dadurch heruntergedrückt, daß stark verdünntes Fleisch- (Hefe-)wasser zur Nährbodenbereitung verwendet wurde. Das Wachstum auf solchem Agar ist naturgemäß schlechter als auf Nährböden mit vollem Fleisch- (Hefe-)wassergehalt; dementsprechend tritt die wachstumsfördernde Wirkung etwaigen Peptonzusatzes besonders deutlich hervor. Hierüber, wie über die Wirkung eines Asparaginzusatzes berichtet die im folgenden wiedergegebene Versuchsreihe. Zur besseren Uebersichtlichkeit der Ergebnisse ist eine 5-teilige Intensitätskala zugrunde gelegt: 0 bedeutet kein Wachstum, 1 äußerst zartes, 5

1) Lehmann, E., Zur Biologie von Paratyphus A. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 81. 1916. S. 275.)

2) Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903. S. 15.

äußerst üppiges Wachstum, 2—4 entsprechende Mittelwerte; das Zeichen ! bedeutet ein etwas besseres, das Zeichen ( ) ein etwas schlechteres Wachstum, als die betreffende Zahl angibt<sup>1)</sup>. Dem Nährboden war aus später zu erörternden Gründen ein Traubenzuckerzusatz gegeben und als Indikator eintretender Säuerung bzw. Alkalibildung Wasserblau zugefügt.

Tabelle 1.

Versuch über die Wirkung von Asparagin- bzw. Peptonzusatz bei Kultur auf N-armem Nähragar.

Nährboden: 100 ccm Hefewasser + 900 ccm Leitungswasser + 30 g Agar + 5 g NaCl (schwach lackmusalkalisch) ± Asparagin bzw. Pepton; zu je 80 ccm dieses Nähragars 20 ccm einer 1/2-proz. Wasserblaulösung ± Traubenzucker.

Besondere N-Quelle	Trauben-zucker-zusatz %	Wachstumsintensitäten nach 24-stünd. Bebrütung bei 37°						
		B. coli III	B. coli IV	Typhus III	Typhus IV	Paratyph. B	Ruhr Y	Ruhr Shiga
fehlt	0	2	2!	1—2	1—2	(2)	(2)	(2)
	0,05	(3)	(3)	(2)	(2)	(3)	2!	2
	0,1	2—3	2—3	2	(2)	2—3	2!	2
	1	2—3	2—3	2	(2)	2—3	2!	2!
Asparagin 1 %	0	2!	2—3	(2)	(2)	2!	2	2
	0,05	3	3	2	(2)	2—3	2!	2!
	0,1	3—4	3—4	2	2	3—4	(3)	2!
	1	3	3	2!	2	(3)	2!	2—3
Pepton 2 %	0	2—3	2—3	2!	2!	2—3	2	2
	0,05	3—4	3!	2—3	2!	3!	3	2—3
	0,1	3—4	3—4	2—3	2—3	3	(3)	(3)
	1	3	3—4	3	(3)	3	3!	3

Neben 2 Typhusstämmen kamen 2 Coli-Stämme, 1 Paratyphus B, 1 Ruhr Y und 1 Ruhr Shiga-Kruse zur Untersuchung. Die maximalen Wachstumswerte wurden übereinstimmend nur auf Nährböden mit einem gewissen Zuckerzusatz beobachtet, was daraufhin deutet, daß infolge der Verwendung verdünnten Hefewassers auch die C-Quelle den Ansprüchen der betreffenden Bakterien nicht mehr genügte.

Was die Wirkung eines Asparagin- bzw. Peptonzusatzes anbetrifft, so zeigen *Bacterium coli* und Paratyphus B eine deutliche Förderung durch beide Stickstoffquellen; bei Ruhr Y und Ruhr Shiga-Kruse bedingt Pepton eine deutliche, Asparagin im allgemeinen eine kaum feststellbare Verbesserung der Wachstumsbedingungen; das Gleiche gilt für die beiden zur Untersuchung herangezogenen Typhusstämmen.

So zeigen diese Versuche anscheinend das Gleiche, was schon die älteren Untersuchungen von Capaldi und Proskauer mit flüssigen Nährböden ergeben hatten; erst die Berücksichtigung der Reaktionsänderungen des Nährbodens läßt erkennen, daß Typhusbakterien doch in weitgehendem Maße imstande sind, nicht nur Pepton, sondern auch Asparagin anzugreifen.

Neben einem die jeweilige Reaktion kennzeichnenden Indikator enthält der in den obigen Versuchen verwendete Nährboden einen bestimmten Traubenzuckerzusatz. Traubenzucker wird von allen zu

1) In bezug auf Einzelheiten der gewählten Intensitätsskala vgl. Gaßner, Hefewassernährböden und ihre Bewertung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 308.)

den Versuchen herangezogenen Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe unter Säurebildung vergoren, während andererseits aus den vorhandenen N-Verbindungen des Nährbodens basische Stoffwechselprodukte gebildet werden. Wie ich bereits an anderer Stelle<sup>1)</sup> dargelegt habe, kann man das gegenseitige Verhältnis von Säure- und Alkalibildung zur Feststellung des N-Gehaltes des betreffenden Nährbodens benutzen. „Alkali- und Säurebildung wirken einander entgegen; in Nährböden, die eiweißreich und zuckerarm sind, wird die Alkalibildung, in eiweißarmen und zuckerreichen Nährböden dagegen die Säurebildung überwiegen. Konstanten Zuckergehalt eines Nährbodens vorausgesetzt, können wir daher aus einer Blaufärbung des Lackmusnährbodens auf N-Reichtum, aus einer Rotfärbung auf N-Armut schließen, genau so, wie uns bei gleichem N-Gehalt des Nährbodens Rot- oder Blaufärbung die relative Höhe des Zuckergehaltes andeutet.“ Wenn also bei einem Nährboden bestimmten Zuckergehaltes durch Zugabe einer bestimmten N-Verbindung die sonst zutage tretende Säurebildung einer Alkalibildung Platz macht, so zeigt dies eindeutig, daß die betreffende N-Verbindung eine Bildung basischer Produkte durch die Bakterien veranlaßt, also in den Stoffwechselkreis dieser Bakterien einbezogen wird.

Als Indikator war dem obigen Nährboden an Stelle von Lackmus Wasserblau hinzugefügt; dieser Farbstoff bietet gegenüber dem Lackmus den Vorteil, Feinheiten des Reaktionsumschlages besser verfolgen und zur Darstellung bringen zu können. Der mit Wasserblau bereitete Nährboden der üblichen schwach lackmusalkalischen Reaktion ist schön durchsichtig blau; säurebildende Bakterien färben ihn tief dunkelblau, wobei die Kolonien selbst in der Durchsicht schwärzlich erscheinen; alkali-bildende Bakterien entfärben den Nährboden je nach Stärke der Alkali-

Tabelle 2.  
Versuch über die Wirkung von Asparagin- bzw. Peptonzusatz  
bei Kultur auf N-armem Nähragar.  
Nährbodenzusammensetzung siehe Tabelle 1.

Besondere N-Quelle	Trauben- zucker- zusatz %	Farbenbild nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°						
		B. coli III	B. coli IV	Typhus III	Typhus IV	Para- typh. B	Ruhr Y	Ruhr Shiga
fehlt	0	— $\frac{5}{10}$	— $\frac{7}{10}$	— $\frac{2}{10}$	— $\frac{1}{10}$	— $\frac{7}{10}$	— $\frac{5}{10}$	— $\frac{2}{10}$
	0,05	— $\frac{5}{10}$	— $\frac{2}{10}$	+ II	+ II	— $\frac{2}{10}$	— $\frac{3}{10}$	+ I
	0,1	0	teils — $\frac{1}{10}$	+ II	+ II	+ III	+ III	+ I
	1	+ III	teils + I + III	+ II	+ II	+ III	+ III	+ II
Asparagin 1%	0	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{1}{10}$	— $\frac{1}{10}$	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{3}{10}$	— $\frac{5}{10}$
	0,05	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{2}{10}$	— $\frac{1}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{5}{10}$
	0,1	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{4}{10}$	0	— $\frac{10}{10}$	teils — $\frac{3}{10}$ teils + II	— $\frac{1}{10}$
	1	+ III	+ III	+ I	+ I	+ III	+ III	teils 0 teils + II
Pepton 1%	0	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{4}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{4}{10}$
	0,05	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{3}{10}$	teils — $\frac{5}{10}$ teils + I	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{4}{10}$	— $\frac{3}{10}$
	0,1	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{4}{10}$	— $\frac{2}{10}$	+ I	— $\frac{4}{10}$	0	+ I
	1	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III

1) Gaßner, l. c.

bildung schwach bis vollständig. Die verschiedenen Intensitäten der Dunkelbläuung durch Säurebildung sind im folgenden durch die Zahlen + I (geringster Grad), + II, und + III (stärkster Grad) angedeutet. Entfärbung durch Alkalibildung ist durch die Zeichen  $-\frac{1}{10}$ ,  $-\frac{2}{10}$  bis  $-\frac{10}{10}$  wiedergegeben, wobei  $-\frac{1}{10}$  eine kaum wahrnehmbare,  $-\frac{10}{10}$  eine totale Entfärbung des durchsichtig blauen Nährbodens, die übrigen Zahlen entsprechende Zwischenwerte bedeuten.

Nach den in der vorstehenden Tabelle enthaltenen Daten liegen für *Bacterium coli* nennenswerte Unterschiede des Farbenbildes bei den gewählten Traubenzuckerkonzentrationen vor allem insoweit vor, als bei einem Traubenzuckergehalt von 0,1 Proz. auf Nährboden ohne besonderen N-Zusatz Alkali- und Säurebildung sich annähernd das Gleichgewicht halten, während bei Pepton- und Asparaginzusatz die Alkalibildung rein hervortritt.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten der Typhusbakterien. Auf Nährboden ohne besonderen N-Zusatz ist bereits bei einem Zuckergehalt von 0,05 Proz. eine mittelstarke Säurebildung zu beobachten. Enthält der Nährboden Asparagin, so wird noch bei einem Zuckergehalt von 0,1 Proz. die Säurebildung durch die stärkere Bildung basischer Stoffe aus dem zugesetzten Asparagin verdeckt, und zwar in noch stärkerem Maße, als dies ceteris paribus durch Peptonzusatz geschieht.

Paratyphus B zeigt seine bekannte Mittelstellung zwischen *Bacterium coli* und Typhus insoweit, als auf Nährboden ohne besonderen N-Zusatz noch bei einem Zuckergehalt von 0,05 Proz. eine deutliche Entfärbung, also Alkalibildung erfolgt, während bei 0,1 Proz. Zucker bereits starke Säurebildung vorliegt. Asparagin- und Peptonzusatz wirken im übrigen in der gleichen Richtung wie bei *B. coli* und Typhus.

Auch bei den beiden untersuchten Ruhrarten bewirkt Asparaginzusatz eine entsprechende Verschiebung des Farbenbildes wie Peptonbeigabe; erwähnenswert erscheint, daß Ruhr Y teilweise als stärkerer Alkalibildner erscheint als Ruhr Shiga-Kruse.

Im folgenden sei noch ein weiterer Versuch ähnlicher Art wiedergegeben, in dem an Stelle stark verdünnten Hefewassers eine mit nur 3 Teilen Leitungswasser verdünnte Fleischbouillon zur Nährbodenbereitung gedient hatte. Auch in dieser Versuchsreihe macht sich die Wirkung des Asparaginzusatzes in der gleichen Richtung geltend wie die eines Peptonzusatzes, wenn naturgemäß auch infolge der Verwendung einer Ausgangslösung anderen N-Gehaltes der Uebergang von Säure- zu Alkalibildung sich bei etwas anderen Zuckerkonzentrationen vollzieht. Als Indikator hatte im folgenden Versuch Säurefuchsin gedient, das durch Säure stärker gerötet, durch Alkalien entfärbt wird. Der Ansicht von E. und A. Kindborg<sup>1)</sup>, daß die Entfärbung des Säurefuchsin durch Typhus- und andere Bakterien als Reduktionswirkung aufzufassen ist, vermag ich mich nicht anzuschließen, da eine Kontrolle der folgenden und anderer Versuchsreihen mittels Lackmuslösung als Indikator eine völlige Uebereinstimmung zwischen Lackmusrötung bzw. -bläuung einerseits und Säurefuchsinrötung bzw. -entfärbung andererseits ergeben hat. Die Schätzung des Säurefuchsinfarbenbildes erfolgte in entsprechender Weise wie die weiter oben beschriebene des Wasserblau Nährbodens.

1) Kindborg, E. u. A., Ueber eine neue Farbenreaktion zur Erkennung des Typhusbacillus und verwandter Arten im Plattenausstrich. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. S. 554.)

Tabelle 3.

Versuch über die Wirkung von Asparagin- bzw. Peptonzusatz bei Kultur auf verdünntem Fleischbouillonagar.

Nährbodenzusammensetzung: 250 ccm Fleischbouillon + 750 ccm Leitungswasser + 30 g Agar + 5 g NaCl (schwach lackmusalkalisch) ± Asparagin bzw. Pepton; zu je 80 ccm dieses Nähragars 15 ccm Wasser ± Traubenzucker und 5 ccm von 3-proz. Säurefuchsinlösung.

Besondere N-Quelle	Traubenzuckerzusatz %	Farbenbild nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°					
		B. coli I	B. coli II	Typhus I	Typhus II	Paratyphus B	Ruhr Y
fehlt	0	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{2}{10}$	— $\frac{2}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{2}{10}$
	0,1	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{9}{10}$	+ II	+ II	— $\frac{5}{10}$	+ I
	0,2	+ I	teils — $\frac{9}{10}$ teils + I	+ II	+ II	+ II	+ II
	0,5	+ II	+ II	+ II	+ II	+ II	+ II
	1	+ III	+ III	+ II	+ III	+ III	+ II
Asparagin 1 %	0	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{5}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$
	0,1	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$
	0,2	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{6}{10}$	teils — $\frac{6}{10}$ teils + II	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$
	0,5	teils — $\frac{8}{10}$ teils + II	— $\frac{8}{10}$	+ I	teils — $\frac{8}{10}$ teils + II	+ III	+ II
	1	+ III	+ III	+ I	+ II	+ III	+ II
Pepton 2 %	0	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$
	0,1	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{9}{10}$	teils — $\frac{8}{10}$ teils + II	teils — $\frac{6}{10}$ teils + I	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{8}{10}$
	0,2	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{7}{10}$	teils + II	teils + I	— $\frac{6}{10}$	— $\frac{8}{10}$
	0,5	+ III	+ III	+ II	+ III	+ III	+ II
	1	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III

Farbenbild nach 48-stündiger Bebrütung bei 37°

fehlt	0	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{2}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$
	0,1	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	+ II	+ I	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{8}{10}$
	0,2	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{9}{10}$	+ III	+ III	+ III	+ III
	0,5	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III
	1	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III
Asparagin 1 %	0	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$
	0,1	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$
	0,2	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{9}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{9}{10}$
	0,5	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{8}{10}$	— $\frac{9}{10}$	teils — $\frac{8}{10}$ teils + III	— $\frac{9}{10}$
	1	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III
Pepton 2 %	0	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$
	0,1	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$
	0,2	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$	— $\frac{10}{10}$
	0,5	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III
	1	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III	+ III

Die vorstehende Zusammenstellung enthält außer den Ablesungen nach 24-stündiger Bebrütungszeit auch diejenigen nach 48-stündiger Versuchsdauer. Das Farbenbild nach 48 Stunden ist etwas verschieden von demjenigen nach 24 Stunden, weil bei bestimmten Zuckerkonzentrationen mit längerer Versuchsdauer die Alkalibildung aus dem N-Gehalt des Nährbodens eine anfänglich zu beobachtende, aus dem Zucker erfolgende Säurebildung nachträglich überwiegt, nämlich dann, wenn der Zuckergehalt ein nur mäßiger ist und vorzeitig aufgebraucht wird.

Im übrigen zeigen auch die nach 48-stündiger Versuchsdauer vorgenommenen Ablesungen, daß auch bei Verwendung von verdünnter Fleischbouillon als Ausgangslösung ein Asparaginzusatz in ähnlicher Weise und in zum mindesten nicht geringerem Grade die Bildung basischer Stoffe durch Typhus- und Ruhrbazillen bedingt als Peptonzusatz. Asparagin wird also nicht nur durch *Bacterium coli*, sondern in hohem Maße auch durch Typhus- und Ruhrbazillen angegriffen. Diese Tatsache ist vor allem deswegen von besonderem Interesse, weil nach der heute landläufigen Meinung Asparagin eine Stickstoffquelle darstellt, die im Gegensatz zu Pepton für den Stoffwechsel der Typhusbazillen ganz oder so gut wie ganz bedeutungslos ist, eine Meinung, auf welche dann meist Hypothesen über die spezifische Anpassung der Typhusbazillen an besonders komplizierte Eiweißverbindungen gegründet werden. Ganz so eindeutig scheint die Sache denn doch nicht zu liegen; soweit aus den obigen Versuchen zu ersehen, besteht kein prinzipieller Unterschied der Asparaginspaltung zwischen *Coli*- und Typhusbakterien; es scheint sich vielmehr nur um graduelle, quantitative Unterschiede zu handeln. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio.**

Mit 5 Figuren im Text.

### A. Parasitologische Untersuchungen.

#### 1) Geographische Verbreitung einiger Parasiten.

1) *Blastocystis muris* Galli-Valerio; *M. rattus* und *M. decumanus* (Darm), Lausanne, Juni und Okt. 1916, Galli. Der *Bl. hominis* sehr ähnliche Körperchen.

2) *Eimeria salamandrae* Steinh.; *Salamandra maculosa* (Darm), Lausanne, 9. Jan. 1917, Galli.

3) *E. falciformis* Eimer; *Mus musculus* (Darm), Lausanne, 1916, Galli.

4) *Entamoeba muris* Grassi; *M. rattus* (Darm), Lausanne, 26. Sept. 1916, Galli.

- 5) *E. gingivalis* Gros; Mann (Mund), Lausanne, Juni 1916, Galli.
- 6) *E. dysenteriae* Councilm. et Lafleur; im Kote von französischen und belgischen Internierten, Lausanne, 1916, Galli.
- 7) *Opalina ranarum* Purk. et Val; *Rana temporaria* (Enddarm), Lac vert (1300 m, Kanton Wallis), Juli 1916, Galli.
- 8) *Lamblia intestinalis* Lambl.; bei einer an Durchfall eingegangenen weißen Maus und bei einem auch daran leidenden Manne, Lausanne, 23. u. 26. Jan. 1916, Galli.
- 9) *Schistosomum haematobium* Bilharz; Harn eines Mannes, der in Afrika gelebt hat, Lausanne, Dez. 1916, Gladkoff. Um die Eier leicht zu finden, empfiehlt es sich, den Harn durch Papier zu filtrieren und den Rückstand zu mikroskopieren.
- 10) *Macrodera longicollis* Abild.; *Tropidonotus natrix* ♀ und junge *Tropidonotus* (Lunge). Die Eier waren im Darne sehr zahlreich, Collonges (Wallis), Januar 1916, Galli.
- 11) *Oxysoma brevicaudatum* Zed.; *Anguis fragilis* (Darm), Ayent (1038 m, Wallis), Juli 1915, Galli.
- 12) *Strongylus polygyrus* Duj.; *Mus sylvaticus*, Junge (Darm und in Cysten der Darmserosa), Vidy (Lausanne), 25. Febr. 1917, Galli.
- 13) *Trichocephalus nodosus* Rud., ebenso.
- 14) *Trichosoma splenaceum* Duj.; *Leucodon araneus* (Eierknötchen in Leber und Würmer im Darne), Chalet des Portes (1211 m, Gruyère) und Croisettes (721 m, Lausanne), 10. Dez. 1916 und 5. Jan. 1917, Galli.
- 15) *Filaria quadrispina* Dies.; *Genetta vulgaris*, unter der Haut, Ngômô (Bas Ogoué), 5. Dez. 1913, Pelot.
- 16) *Gongylonema filiforme* Melin; Affe, „Ndovà“ genannt (unter der Haut), ebenda, 8. März 1913, Pelot.
- 17) *Strongyloides intestinalis* Bavey; bei einem an Durchfall leidenden Manne, der in Indochina gelebt hat, Lausanne, 23. Febr. 1917, Terrier.
- 18) *Angiostomum fuscovenosum* Raill.; *Tropidonotus natrix* ♀ (Lunge), Collonges (Wallis), Jan. 1916, Galli. Viele Eier im Darne.
- 19) *Nematoideum soricis aranei* Creplin; *Leucodon araneus* (viele Larven im Peritoneum), Croisettes (721 m, Lausanne), 5. Jan. 1917, Galli.
- 20) *Echinorhynchus salmonis* Müll.; *Perca fluviatilis* (Darm), Ouchy (Lausanne), Mai 1916, Galli.
- 21) *Hirudo medicinalis* L.; Lac de Lussy (826 m, Gruyère). Sommer 1916, Chappuis.
- 22) *Glossiphonia bioculata* Berg.; Pfütze, Vidy (Lausanne). März 1916, Galli.
- 23) *Microthrombidium pusillum* (Haller); Ziegen (Haut), Salvan (925 m, Wallis), Nov. 1916, Coquoz. Die Thrombidiasis der Ziegen, die ich aus dem Vältlin beschrieben habe<sup>1)</sup>, kommt auch in Wallis vor. Ich habe sie nicht nur in Salvan, sondern auch oberhalb Martignys gesehen. Die Bauern glauben, daß die roten Flecke auf der

1) Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 56. 1913. S. 129. u. Bd. 72. 1914. S. 488.



Ziegenhaut darauf zurückzuführen sind, daß die Ziegen den *Agaricus muscarius* fressen!

24) *Ixodes tenuirostris* Neum. (Class. Nuttall); *Arvicola nivalis* (Mayens de Van, 1136 m, Wallis) und *Hypudaeus glareolus* (Cery, Lausanne) (Haut), Juli 1914, Narbel und Preisig.

25) *Chernes nodosus* Schr.; *Musca domestica* (Beine), Lausanne, Aug. 1916, Boscoscuro.

26) *Pulex dugesi* Baker; Mann (Haut), Venezuela, Nuñez. Diese Art hat schon früher mein Schüler Haayen<sup>2)</sup> aus Columbia bekommen; sie ist sehr wahrscheinlich in Südamerika verbreitet.

27) *Ceratophyllus fasciatus* Bosc d'Ant.; Meerschweinchen, Lausanne, 14. Juni 1916, Galli.

28) *Typhlopsylla gracilis* Tasch; *Talpa europaea*, Südwest-Frankreich, Juni 1916, Weiss.

29) *Ctenophthalmus agyrtes* (Heller), Baker, ebenso.

30) *Braula caeca* Nitzsch; Bienen, Croisettes (728 m, Lausanne), Raymond.

31) *Polyplax villosa* Galli-Valerio; *Arvicola nivalis*, Mayens de Van (Salvan, 1136 m, Wallis), Juli 1916, Narbel.

## 2. Untersuchungen über Phytoparasiten.

1) Kriterien für die Aufstellung einer neuen Mykose. Nach der Entdeckung der Sporotrichose wurden bei Menschen und Tieren sehr viele ähnliche Mykosen beschrieben, doch ist es sehr wahrscheinlich, daß in einigen Fällen die Fadenpilze nicht die Ursache der Krankheit sind, sondern daß es sich nur um Saprophyten handelte. Aus dem Eiter eines Abszesses bei einem Kinde habe ich nun einen Pilz kultiviert, dessen Kulturen denjenigen von *Sporothrica beurmanni* makroskopisch, aber nicht mikroskopisch, sehr ähnlich waren, doch hat die Einimpfung des Eiters bei Meerschweinchen Tuberkulose erzeugt. Man muß daher, auch wenn im Eiter Fadenpilze vorhanden sind und mikroskopisch Tuberkelbazillen nicht zu finden sind, immer ein Meerschweinchen impfen.

2) Wie lange ist es möglich, *Actinomyces*drusen in Wasser zu finden? Nach Jeandin, Guder, Dor, Piana verschwinden die *Actinomyces*drusen sehr schnell aus dem Eiter, wogegen Guermontprez und Bécue<sup>2)</sup> die Drusen in Eiter gefunden haben, der 6 Monate konserviert worden war, und ich selbst<sup>3)</sup> habe die typischen Keulen in einem Rinderkiefer, der seit 10 Monaten in der Erde gelegen hatte, gefunden. Am 30. Nov. 1916 habe ich etwas Eiter mit *Actinomyces*drusen in Wasser gebracht. Noch am 10. Febr. 1917 konnte ich typische Drusen finden. Am 20. Febr. war der Eiter ganz eingetrocknet; nach Zusatz von etwas Wasser konnte ich am 2. März mit der Färbungsmethode von Lemièrre und Bécue die Keulen wieder auffinden. Es ist also möglich, die Aktinomykose noch zu diagnostizieren, auch wenn der Eiter einige Monate im Wasser lag.

3) Dritte Mitteilung über Rattentuberkulose<sup>4)</sup>. Diese Untersuchungen können in 2 Reihen eingeteilt werden:

2) Inaug.-Dissert. Lausanne. 1913.

2) Aktinomykose. Paris 1894.

3) Moderno Zooiatro. 1894. No. 22.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 511. u. Bd. 79. 1916. S. 44.

1. Reihe: Impfungen mit einer Tuberkel-emulsion (Typus bovinus) einer weißen Ratte  $\frac{1}{2}$  ccm unter die Schenkelhaut.

1. Experiment: Eine bunte Ratte ist nach 13 Monaten eingegangen. Beide Lungen enthielten viele gelbe Knötchen von Hirsekorn- bis Erbsengröße (Fig. 1), welche gelben Eiter mit sehr vereinzelt Tuberkelbazillen und zahlreiche *Corynebacterium muris* enthielten. Die Knötchen waren von *C. muris* gebildet. Ein Mus decumanus, der mit einer Emulsion dieser Knötchen geimpft worden war, ist nach  $4\frac{1}{2}$  Monaten eingegangen mit ganz ähnlichen Veränderungen, die nur *C. muris* enthielten.

2. Reihe: Impfungen mit einer Tuberkel-emulsion (Typus bovinus, durch Kaninchen, Ratten und *M. sylvaticus* passiert) eines *M. sylvaticus*  $\frac{1}{2}$  ccm unter die Schenkelhaut.

1. Experiment: Eine weiße Maus ist nach 9 Monaten eingegangen. Die Lungen sind an der Basis mit weißen Tuberkeln ganz infiltriert. Tuberkelbazillen sind sehr zahlreich, keulenförmig und liegen in kleinen Häufchen. Auch Riesenzellen mit sehr vielen Bazillen sind vorhanden. Die Bazillen sind spärlich in der Milz und sehr selten in der Leber; sie fehlen in den Nieren, sind aber zahlreich im Darms.

2. Experiment: Von einem *M. rattus*, 2 weißen Mäusen, 1 Meerschweinchen und 1 Kaninchen, die mit einer Tuberkel-emulsion der obigen Maus von Experiment 1 geimpft waren, leben die Ratte und die Mäuse noch, während das Meerschweinchen und das Kaninchen nach 18 und 28 Tagen an starker Tuberkulose eingegangen sind.

3. Experiment: Ein Meerschweinchen, das mit einer Emulsion des Kotes der Maus aus Experiment 1 geimpft worden ist, ist nach 42 Tagen auch an starker Tuberkulose eingegangen.

Diese Experimente zeigen, daß auch nach vielen Passagen die Tuberkelbazillen des Typus bovinus für Meerschweinchen und Kaninchen und sehr wahrscheinlich auch für Rinder sehr virulent bleiben. Da infizierte Muriden Tuberkelbazillen mit ihrem Kote verbreiten können, so könnten auch spontaninfizierte Mäuse und Ratten die Rindertuberkulose verbreiten.

4) Ein Fall von Tetanus bei einem kastrierten Kaninchen. In der Literatur findet man keine Mitteilung über Spontan-tetanus bei Kaninchen. Ich fand nun bei einem kastrierten Kaninchen die typischen Symptome des Tetanus; das Tier ist eingegangen. Ein kleines Stück der Kastrationswunde, das unter die Schenkelhaut eines *M. musculus* geimpft wurde, hat in 24 Stunden Starrkrampf erzeugt.

### 3. Untersuchungen über Zooparasiten.

1) Untersuchungen an Eiern von *Diboth. latus* L. Eine neue Mißbildung der Eier dieser Art habe ich im Kote eines Hundes



Fig. 1.

bemerkt. Einer der Pole war etwas zugespitzt und in 3 Segmente, die an 3 nicht entwickelte Eier denken ließen, verlängert (Fig. 2). Eier, die im Kote unter einer Wasserschicht von 10 cm 10 Monate geblieben waren, und die mit sehr wenig Wasser in eine Petri-Schale nach der Methode von Janicki gebracht wurden, sind im allgemeinen degeneriert, einige aber haben sich gut entwickelt.

2) Infektion mit *Distoma migrans* Duj. bei *Sorex vulgaris*. Bei einem *Sorex vulgaris*, den ich tot in Savigny (806 m) am 24. April gefunden habe, war die rechte Niere in eine weiße Kapsel umgewandelt; sie enthielt sehr viele, gelbbraune, mit sehr deutlichem Deckel versehene Distomideneier von  $90-100 \times 52 \mu$ . Ähnliche Eier waren in dem ganzen Körper verbreitet, so unter den Muskeln der Lendenregion, in den Lungen, der Leber, Milz, einer Cyste von der Größe eines Hanfkorns, die durch einen Stiel an die Darmserosa fixiert war. Ähnliche Cysten von  $\frac{1}{2}-1,5$  mm waren auch im Darne vor-



Fig. 2.



Fig. 3.

handen. Nur im Darne fand ich 2 *Distoma migrans* Duj. von  $1,5-2 \times 0,5-1$  mm, deren Eier mit denjenigen, die an die verschiedenen Organe gelagert waren, identisch waren.

3) Ueber einige Zooparasiten von Ngômô (Bas Ogoué). Diese Parasiten habe ich von Herrn Missionär L. Pelot bekommen.

Ein Fall von Polyhelminthiasis bei *Numida* sp.?, durch *Syngamus trachealis* v. Sieb. (Luftröhre), *Trichosoma strumosum* Reib. (Kropf), *Dispharagus nasutus* Rud. (Magen), *Heterachis papillosa* Bloch und *H. perspicillum* Aud. (Fig. 3) erzeugt. Nach Pelot sind in Ngômô sehr viele Perlhühner an dieser Polyhelminthiasis eingegangen.

Ein Fall von hirsekorngroßen Cysten in den Muskeln eines „Ntzana“ genannten Fisches, die eine zusammengerollte *Spiroptera* enthielten. Diese *Spiroptera* war 14 mm lang,  $\frac{1}{3}$  mm breit, am Vorderende etwas, am Hinterende noch mehr verjüngt; Körper fein quergestreift und ganz mit Eiern und Embryonen erfüllt. Die segmentierten und embryonierten Eier waren eiförmig, von  $40 \times 30 \mu$ ; Embryonen von  $405 \times 7,5 \mu$ ; Vorderende etwas abgerundet, fein granuliert, Hinterende sehr zugespitzt, durchsichtig. Diese Embryonen waren denen von *F. medinensis* sehr ähnlich. Ich schlage für diese *Spiroptera* den Namen *Sp. peloti* n. sp. vor.

Ein Fall von sehr zahlreichen Cysten von  $3 \times 2$  mm unter der Darmserosa einer *Bitis nasicornis* (Fig. 4). In den Cysten fand ich Körperchen von  $825-900 \mu$ , die an einem Ende  $225 \mu$ , am anderen  $675 \mu$  breit und quergestreift waren mit zahlreichen Kalkkörperchen. Das dünnere Ende zeigte einen invaginierten, keulenförmigen, mit zugespitzten Haken bewaffneten Rüssel. Man hat es also mit Larven von *Acanthocephaliden* zu tun.

Ein Fall von *Porocephalus*, unter der Haut und in der Muskulatur einer *Bitis nasicornis*. Körper zylindroid, nicht sehr deutlich geringelt, mit 18–20 Ringeln von  $2-3\frac{1}{2}$  cm Länge, vorn 2 mm, hinten  $\frac{1}{2}$  mm breit. Mund kelchförmig; Haken sehr gut entwickelt, die vorderen  $135 \mu$ , die hinteren  $285 \mu$  von dem Munde. Dieser *Porocephalus*, der nicht gut entwickelt ist, ist wahrscheinlich der *P. armillatus* (Wyman), der schon bei *Bitis nasicornis* gefunden worden ist<sup>1)</sup>.



Fig. 4.



Fig. 5.

4) Durchbohrung des Magens einer weißen Maus durch *Protospirura muris* Werner. Bei einer weißen Maus, die an Peritonitis eingegangen war, habe ich eine *P. muris* ganz frei im Abdomen und eine andere, die noch mit dem hinteren Ende im Magen war, gefunden. Die 2 Würmer waren lebendig.

5) Ueber Verbreitung der Helmintheneier durch Schnecken. Auf dem Körper von *Arion rufus* und *Limax agrestis*, die ich auf menschlichem Kote gesammelt hatte, habe ich Eier von *Ascaris lumbricoides* und *Trichocephalus trichiurus* gefunden. Diese Schnecken wirken demnach als Verbreiter der Helmintheneier auf Salat, Erdbeeren usw. und in Wasserreservoirs.

6) Wahrscheinliche Uebertragung der Räude von Katzen auf Kaninchen. Im Winter 1916–17 herrschte in Lausanne eine Räude-Epizootie bei Katzen. Eine der kranken Katzen schlief immer mit Kaninchen zusammen, die alle mit Räude infiziert wurden und ich habe bei ihnen *S. minor* gefunden.

7) Untersuchungen über *Niptus hololeucus* Fald. Dieser Käfer ist jetzt in einigen Häusern des Kanton Waadt sehr verbreitet

1) Sambon, Journ. of trop. Med. 1910. p. 17.

und zu einer wahren Pest geworden. Seine Vernichtung ist nach meinen Erfahrungen schwer, da er, ohne zu fressen, 3 Monate am Leben bleiben kann. Unter Einwirkung verschiedener Substanzen, kann er sehr schnell betäubt werden, zeigt aber nach Stunden und Tagen wieder Bewegungen. Am besten wirksam gegen ihn sind Salforkose, Terpentin, Anisol, Xylol, Cyansäure, Essigsäure, Petroleum, Nitrobenzol. Sehr wahrscheinlich sind die Eier noch widerstandsfähiger.

8) Ueber eine Hämogregarine von *Tropidonotus natrix*. Bei einem jungen *T. natrix* aus Collonges (Wallis) habe ich eine Hämogregarine gefunden, teils in den roten Blutkörperchen, teils im Begriffe, dieselben zu verlassen, und teils ganz frei im Blute. Sie war etwas hantelförmig, an einem Ende ein wenig zugespitzt, von 8 bis  $15 \times 2 \mu$  (Fig. 5). Wie bei *H. luisieri*<sup>1)</sup> zeigen einige Formen in der Nähe eines Endes eine Verengung. Kern ist klein, etwa in der Mitte des Körpers. Die parasitierten, roten Blutkörperchen sind vergrößert. Hämogregarinen bei *T. natrix* waren bis jetzt nicht beschrieben; ich schlage für sie den Namen *H. bornandi* vor, nach Dr. Bornand, der mir die Schlange gegeben hat.

### B. Parasitologische Technik.

1) Die Geißelfärbung nach Casares-Gil. Als Ergänzung zu meiner früheren Mitteilung über diese Methode<sup>2)</sup> bemerke ich: 1) Man muß Rosanilinhydrochlor. sehr gut im Mörser zerquetschen, 2) die Lösung muß weder filtriert noch abgossen werden. Eine am 5. Febr. 1914 hergestellte Lösung ist noch jetzt sehr gut. Man muß nur etwas länger färben. Mesnil und Caullery, die diese Methode probiert haben<sup>3)</sup> konnten auch die Membran bei Spirochäten färben.

2) Ueber Fixierung, Färbung und Konservierung von Parasiten. Zur Färbung von Spirochäten in Ausstrichpräparaten habe ich sehr gute Resultate mit der Methode von Hollande<sup>4)</sup> erzielt. Man macht 2 Lösungen: A. Aethergerbsäure 5 g, Essigsäure 5 ccm, 96° Alkohol 50 ccm, destilliertes Wasser 50 ccm; B. Silbernitrat 5 g, in 100 ccm destilliertem Wasser zu lösen, und dann 2 ccm Pyridin hinzufügen. Nach einigen Stunden bemerkt man einen kristallinen Niederschlag, worauf man abgießt und die Flüssigkeit in eine schwarze Flasche bringt.

Für die Färbung: Ausstriche an der Luft trocknen, mit 96° Alkohol fixieren, zweimal je 1' mit Lösung A etwas erwärmen, mit Leitungswasser und dann mit destilliertem Wasser gut waschen, zweimal je 1' mit Lösung B bis zur Dampfentwicklung erwärmen, waschen und trocknen. Die Spirochäten sind dann braun auf gelbem Grunde. Mit dieser Methode habe ich *Sp. vincenti*, *Sp. bronchialis*, *Sp. dentium* und *Sp. pallida* sehr gut gefärbt.

Daß 1-proz. Formalin ein vorzügliches Mittel ist, um tierische Parasiten zu Demonstrationszwecken zu konservieren, habe ich schon berichtet<sup>5)</sup>. Jetzt kann ich noch hinzufügen, daß ich noch nach 20 Monaten *Sp. vincenti* färben konnte. Bleiben die Spirochäten im Auswurfe, so sind sie schon nach 5 Tagen nicht mehr zu finden. Diese Methode kann auch sehr gute Resultate bei der Konservierung von Kot, der Amöben und *Balantidium* enthält, liefern.

1) França, Arch. d. R. Inst. Camara Pestana. T. 3. 1910. p. 137.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 233.

3) Compt. rend. Soc. biol. 1916. p. 1118.

4) Idem. 1917. p. 7.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1916. S. 41.



Auch Glyzerin empfiehlt sich zum Konservieren von Amöben. Zur schnellen Untersuchung von *E. dysenteriae* habe ich gute Resultate mit der Methode Riegel [Chloroform-Manson-Blau<sup>1)</sup>] und mit der Methode Mathis [Osmiumsäure-Hämatoxylin<sup>2)</sup>] erzielt.

Zur Fixierung und Färbung von *E. dysenteriae*, *E. gingivalis* und *E. muris* habe ich mit den folgenden Methoden gute Resultate erhalten:

Trocken fixiert	feucht fixiert	Einwirkungs-dauer	Auswaschen	Färbung
Methyl-alkohol	—	10—15'	Wasser	Giemsa 1:20
—	Pikrinessigsäure	1 Stunde	Alkohol 70%	Böhrer-Hämatoxylin
—	Bouin-Flüssigkeit	dgl.	dgl.	Hämalaun Delafield
—	Dubosq-Brasil-Flüssigkeit	dgl.	dgl.	Pikrokarmin 6—12 St.

Diese Technik hat mir auch gute Resultate gegeben bei der Fixierung und Färbung von *Lamblia intestinalis* und *Balantidium coli*.

Die großen Kulturen von Onkosphären von *Dib. latus*, die Dr. Janicki in meinem Institute gemacht hat, haben mir Gelegenheit gegeben, einige Versuche zur Konservierung und Färbung dieser Embryonen zu machen. Ein gutes Mittel ist Konservierung in Glyzerin; ich habe Präparate, die schon 19 Jahre alt sind. Aehnliche Resultate habe ich mit Farrants Flüssigkeit und Laktophenol erzielt. Eine Vitalfärbung kann man mit einem Tropfen Neutralrot (Neutralrot 0,10, destilliertes Wasser 10) haben. Ausstrichpräparate, trocken mit Methylalkohol oder feucht mit Pikrinessigsäure fixiert, färben sich gut in 6—12 Stunden mit Giemsa 1:20, Hämalaun, Thymolblau, Pikrokarmin, Alaunkarmin, Delafield, Manson-Blau, Heidenhain.

Lausanne, 21. Januar 1917.

(G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Mittel gegen Mücken und Zecken.

Von Dr. Anton Krauß, Eberswalde,

Zoologisches Laboratorium der Kgl. Forstakademie.

Zur Abwehr der Mücken werden unzählige Mittel empfohlen. Eine Anzahl dieser Mücken-Wässer, -Essenzen, -Oele, -Pulver, -Salben und -Stifte und ihre Zusammensetzung erwähnt S. Andresen 1912 in seinem Buche „Die Vertilgung schädlicher Tiere und Pflanzen“, Berlin (Trowitzsch u. Sohn), das hier empfohlen sei; ein weiteres Mittel stammt von Prof. Dr. Fürbringer (Berlin), zuerst 1898 in No. 5—7 der „Deutsch. med. Wochenschr.“ in der Reiseskizze „Bocca d'Arno und Ischia von heute“ mitgeteilt, neuerdings erwähnt („Zur Mückenplage“) in der „Zeitschr. f. Balneol. Jahrg. 3. 1910/11. No. 6: „Es handelt sich um eine konzentrierte, womöglich gesättigte Lösung von Kampfer in Mixture oleoso-balsamica, der, je nach der Empfindlichkeit der Haut, einige Prozente Nelkenöl zugefügt werden“; häufige kopiöse Einreibungen sollen die Mücken gut fernhalten.

In diesem Sommer hatte ich selber Gelegenheit, ein Mittel zu versuchen, über das ich kurz berichten möchte; es handelt sich um das in Flörsheim am Main hergestellte Aethrol, von dem zahlreiche Sorten existieren. Chemisch sind die Aethrole als mit Wasser leicht emulgierende ätherische Oele und Riechstoffe zu bezeichnen. Sie finden als Antiseptika, Desodorantia und Toilettemittel ausgedehnte Verwendung.

1) München. med. Wochenschr. 1916. Beil. S. 1493.

2) Bullet. de l'Inst. Pasteur. 1915. p. 183.

Ich versuchte das Eucalyptus-Aethrol, das sogenannte Waldduft-Aethrol und das speziell gegen Mücken etc. gelieferte Fliegenschutz-Aethrol. Nach Vorschrift sollen zu den Waschungen stark verdünnte Lösungen (1—3 Proz.) angewandt werden. Ich nahm zu den Einreibungen die konzentrierten Aethrole; es genügen minimale Quantitäten; die Präparate sind sehr ergiebig. Die Erfolge waren über meine Erwartung gut: man bleibt in der Tat ein Stündchen von den Mücken verschont. Unmögliches darf man von derartigen Mitteln nicht erwarten, die Einreibungen sind oft zu wiederholen. Da man indes nur geringe Quantitäten braucht, läßt sich ein kleines Fläschchen leicht bei sich führen. — Aehnlich zufrieden mit der Wirkung dieser Aethrole waren die Herren Prof. Dr. Max Wolff (Eberswalde), Gewerberat Franklin Müller (Gera); aus dem Felde schrieb mir mein Bruder Felix Krauß (5. Juli 1917): „Das Präparat — Eucalyptus-Aethrol — habe ich angewendet und gefunden, daß es einige Zeit,  $\frac{1}{2}$  Stunde und länger, gegen das Heer der Fliegen und Mücken hier schützt“; mein Freund Dr. med. Richard Meyer (h. t. Landsturmarzt) schrieb (1. Juni 1917): „Das Aethrol — Fliegenschutz-Aethrol —, wofür ich mich bedanke, scheint ganz gut zu wirken.“ — Danach kann ich zu Versuchen mit den Aethrolen raten. — Auch die Hunde kann man damit schützen.

Ist man von Mücken gestochen worden, so reibt man die Stelle mit einem der konzentrierten Aethrole ein; der lästige Schmerz läßt bald nach.

Auch gegen die Zecken habe ich das Aethrol angewandt. Es wurden einige Tropfen eines konzentrierten Aethrols auf den Parasiten geträufelt, in vielen Fällen war er — nach einigen Stunden — dadurch zum Loslassen veranlaßt; auch die Aethrolsalbe ist hier zu verwenden; bei langhaarigen Hunden ist die Salbe indes weniger geeignet, da sie die Haare zu sehr verklebt. Dasselbe gilt von einer Petroleum-Benzin-Salbe, die mir herzustellen die Flörsheimer Fabrik so freundlich war. Das Benzin ist nach meinen Erfahrungen das wirksamste Mittel gegen die Zecken und wird in der Literatur mit Recht empfohlen, so bei Andresen, l. c. Auch bei Taschenberg („Die giftigen Tiere“, Stuttgart 1909) heißt es mit Recht von den Zecken:

„Man hat beim Einbohren der Tiere eine gewisse Schmerzempfindung, die aber vielfach unbeachtet bleibt, und muß bekanntlich vorsichtig sein, daß man dann bei dem juckenden Gefühle, das der Parasit hervorruft, nicht unvorsichtig darauf los kratzt, weil man ihn leicht derartig zerreißen kann, daß der eingebohrte Vorderkörper in der Wunde haften bleibt und dann unter Entzündung herauseitert. Es wird deshalb stets empfohlen, durch Autträufelung von Oel oder Benzin das Tier zum freiwilligen Loslassen zu veranlassen, was auch meist gelingt.“

Vielen reißt freilich meist die Geduld, und zumeist wird der Parasit abgerissen: in diesen Fällen ist Einreiben der Wunde mit einem der Aethrole sehr zu empfehlen. — In einigen Fällen gelang es mir auch, den Parasiten durch Aufträufeln von Essigäther, weiter von Formol zum Loslassen zu bewegen. Wer Geduld hat, kann die Zecken auch herausmassieren, doch gelingt das nur selten. (G. C.)

### Inhalt.

**Galli-Valerio, B.**, Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik, S. 264.  
**Gaßner, G.**, Asparagin als Stickstoffquelle für Typhusbakterien, S. 258.  
**Krauß, Anton**, Ueber Mittel gegen Mücken und Zecken, S. 271.  
**Pfenninger, Walter**, Beiträge zur Beein-

flussung der Resistenz von Versuchstieren gegenüber Infektionskrankheiten, S. 242.  
**Prell, Heinrich**, Zur Kenntnis einiger defektiver Coli-Formen, S. 225.  
**Zeißler, Joh., u. Gaßner, G.**, Ein Erneuerungsverfahren für gebrauchten Metachromgelb - Wasserblau - Dreifarbenbrennboden, S. 253.

## **Ueber eine abgeschlossene Choleraepidemie mit zahlreichen Mischinfektionen.**

[Aus der Deutschen bakteriologischen Untersuchungsstelle Konstantinopel  
(Vorstand: Marinestabsarzt d. R. Dr. Stad e).]

Von Marineoberassistentenarzt d. R. Dr. **Meggendorfer.**

### **I. Epidemiologisches.**

Anfang April 1917 brach bei einem deutschen Truppenteile eine kleine, umschriebene Choleraepidemie aus.

Die Ursache ließ sich in der Folge fast restlos klären. Es handelte sich um ein Quartier, welches durch zweierlei Wasser versorgt war: einmal Wasser aus einer zentralen Wasserleitung, welche den ganzen Stadtteil mit Wasser versorgt, ferner eine kleine Privatleitung, welche sogenanntes „Quellwasser“ aus einem nahen Tale heranbringt. Im Wasser der erstgenannten großen Wasserleitung wurden bei oftmaligen Untersuchungen niemals Krankheitserreger nachgewiesen. Dagegen gelang die Züchtung von Cholera vibrien aus 2 Proben des „Quellwassers“, die aus verschiedenen Zapfhähnen der kleinen Wasserleitung entnommen waren. Nun wurde die Quelle und ihre Umgebung näher untersucht, und dabei stellte sich heraus, daß auch ein etwa 400 m entfernter, höher gelegener Schmutzwassergraben des benachbarten Tales Cholera vibrien enthielt. Zudem wurde durch Eingießen einer konzentrierten Farblösung nachgewiesen, daß dieser Graben mit der „Quellwasserleitung“ in Verbindung stand. Oberhalb des erwähnten Tales liegen mehrere Kasernen, von denen eine zurzeit als Lazarett dient. Ob Zuflüsse aus diesen die Cholera vibrien in den Graben und von da in das „Quellwasser“ gebracht haben, ließ sich nicht weiter beweisen. Immerhin ist nach den örtlichen Verhältnissen eine solche Vermutung naheliegend. Bemerkenswert ist dabei der lange Weg, den die Choleraerreger zurückzulegen hatten, da sich doch sonst nach allgemeiner Annahme die Cholera vibrien nur kurze Zeit in Jauche zu halten vermögen.

Ferner ließ sich feststellen, daß die betreffenden Mannschaften kurz vor ihrer Erkrankung grünen Salat gegessen hatten, der vorher in dem „Quellwasser“ gewaschen worden war.

Damit findet die Entstehung der Cholera als eine „Wasserexplosion“ kleineren Umfangs ihre Erklärung. Nachdem die Ursache erkannt und die verseuchte Wasserleitung unbrauchbar gemacht worden war, traten keine weiteren Fälle von Cholera mehr auf, obwohl das Quartier beibehalten wurde. Bei den 1910–1913 in Konstantinopel beobachteten Choleraepidemien spielten nach Simond-Pasteur-Kiaumil-Asseo die Kontaktinfektionen die Hauptrolle, während das Wasser nach An-



nahme dieser Autoren für die Verbreitung nicht in Frage kam. Wenn nun auch die Bedeutung des Kontaktes für die Verbreitung der Seuche namentlich unter der ärmeren Zivilbevölkerung keineswegs in Abrede gestellt werden soll, so lehrt doch das vorliegende Beispiel, daß gerade die örtlichen Verhältnisse in Konstantinopel unter Umständen eine Verbreitung der Cholera durch das Wasser begünstigen können.

Die Lage der Verhältnisse ist gerade im vorliegenden Falle geeignet, auch auf eine weitere Infektionsmöglichkeit Licht zu werfen. Der erwähnte Schmutzwassergraben führte nämlich mitten durch Gärten, welche aus ihm ihre Gemüseanlagen bewässerten. Wahrscheinlich wurden die Erzeugnisse vor dem Verkauf auch darin gewaschen. Die Möglichkeit von Infektionen durch den Genuß ungekochter Früchte und Gemüse liegt demnach nahe.

## II. Bakteriologisches.

Es wurden auf Cholera untersucht:

405 Stuhlproben von Erkrankten und Krankheitsverdächtigen,

187 Stuhlproben von Ansteckungsverdächtigen,

im ganzen also 592 Stuhlproben.

Die Stühle der Ansteckungsverdächtigen, d. h. von Leuten, welche mit den Mannschaften des versuchten Quartiers nur in lockere Berührung gekommen waren, erwiesen sich durchweg als frei von Krankheitserregern. Ebenso konnten in den Stühlen Genesender vom 18. Krankheitstage ab in keinem Falle Choleraerreger mehr nachgewiesen werden.

Aus den Stühlen wurden 33mal Choleraerreger nachgewiesen, und zwar bei 31 Kranken, da bei 2 Kranken der Nachweis wiederholt gelang. Dazu kommt noch 1 Fall, bei dem Choleraerreger aus der Galle einer Leiche gezüchtet wurden.

Die angewandte Technik entsprach im wesentlichen den Vorschriften der durch Bundesratssitzung vom 9. Dez. 1915 festgelegten „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera“. Zum Dieudonné-Nährboden wurde neben selbstbereitetem mit gutem Erfolge die Doerrsche Trockenmasse verwendet. Nach 8—12 Stunden wurden die mit Stuhlaufschwemmung angelegten Platten untersucht. Wurden nicht hier schon Choleravibrionen nachgewiesen, so wurde das inzwischen bei 37° bebrütete Peptonwasser auf je eine Dieudonné- und Alkaliagarplatte ausgestrichen. Auch wurden alle Peptonkölbchen im hängenden Tropfen auf Vibrionen untersucht. Hierbei zeigte sich, daß die Vermehrung der Vibrionen im Pepton oft recht langsam eintritt. Während in einer Reihe von Fällen die Dieudonné-Platten schon ziemlich üppig bewachsen waren, war in der gleichaltrigen Peptonkultur noch kaum eine Vermehrung der Vibrionen zu erkennen. Deshalb erscheint mir der Vorschlag von Strisower, aus den Faeces zunächst nur 2 Peptonröhrchen anzulegen und aus diesen erst eine Dieudonné-Platte zu beschicken, falls sie nach 6 Stunden verdächtige Vibrionen enthält, unzweckmäßig und mindestens eine Verzögerung, wenn nicht auch eine Beeinträchtigung der Zuverlässigkeit der Choleradiagnose zu bedingen. Daß die Verwendung von nur verdächtigen Peptonwässern zur weiteren Untersuchung jedenfalls eine erhebliche Fehlerquelle darstellt, geht unter anderem auch aus den Untersuchungen von Verzáar und Wieszeczky hervor.

Andererseits kann man aber auch Bujwid und Arzt nicht recht geben, wenn sie die Peptonanreicherung bei Cholerakrankheitsfällen für

überflüssig erklären. In 30 Fällen der vorliegenden Epidemie wurden zwar die Choleravibrionen von der Dieudonné-Platte, auf welcher der mit Kochsalzlösung verdünnte Stuhl direkt ausgestrichen war, nachgewiesen; jedoch gelang in 3 Fällen sowie bei der Galle der Nachweis erst nach Anreicherung in Peptonlösung. Hoppe-Seyler weist darauf hin, daß die Cholerabazillen oft in unregelmäßigen Schüben im Darminhalt zur Ausscheidung gelangen, so daß es dann erst nach 24-stündiger Anreicherung in Peptonwasser gelingt, die spärlichen Cholerabazillen zum Nachweis zu bringen.

Um aus einer großen Anzahl von Platten rasch die mit Cholera bewachsenen herauszufinden, hat sich bei dieser Epidemie wie bei früheren Gelegenheiten die Geruchsprüfung als sehr zweckmäßig erwiesen. Der von den Choleravibrionen ausgehende eigenartige Geruch ist so typisch, daß es nach kurzer Uebung gelingt, rasch mit einer gewissen Sicherheit die positiven Fälle herauszufinden. Selbstverständlich darf dabei die genauere Prüfung auch der nicht so verdächtig riechenden Platten nicht unterlassen werden. Bei zunächst negativ befundenen Platten muß der Cholerageruch zur besonders genauen Durchmusterung aller Kolonien auffordern.

Die Identifizierung der Choleravibrionen geschah zunächst durch die orientierende Agglutination mit einem hochwertigen Serum in Verdünnung 1:100. Ergab diese ein positives Ergebnis, wie dies bei allen Cholerafällen der Fall war, während eine Kontrolle mit normalem Serum derselben Tierart negativ war, so wurden in den ersten Fällen nach Prüfung der morphologischen Verhältnisse die von der verdächtigen Kolonie gewonnenen Reinkulturen mit hochwertigem Serum bis über Titergrenze ausgewertet.

Nach der neuen amtlichen Anweisung wird zur Abgabe der Diagnose „Cholera“ der Pfeiffersche Versuch nicht mehr gefordert, sondern der Ausfall der großen Agglutination allein für ausreichend erachtet. Zur Vermeidung von Fehldiagnosen ist hervorzuheben, daß die erwähnte amtliche Anweisung den Nachweis von Vibrionen voraussetzt. Wie noch ausgeführt werden soll, kommen paragglutinable Stämme, die nicht Vibrionen sind, vor.

Der Nachweis der Choleravibrionen aus dem Wasser, welcher, wie bereits berichtet, in 3 Fällen geglückt ist, erfolgte gemäß der durch Bundesratssitzung vom 9. Dez. 1915 festgelegten „Anweisung zur Bekämpfung der Cholera“. In den positiven Fällen waren besonders die Dieudonné-Platten mit Choleravibrionen sehr dicht bewachsen; doch waren die Vibrionen mit großen, langsam beweglichen Stäbchen sehr eng vergesellschaftet, so daß die Gewinnung einer Reinkultur etwas verzögert wurde. Die Sicherstellung der Diagnose „Cholera“ erfolgte hier neben der großen Agglutination mit hochwertigen Seren des Instituts für Infektionskrankheiten und des Kaiserlichen Gesundheitsamtes auch durch den Pfeifferschen Versuch.

### III. Beiträge zur Klinik der Cholera auf Grund der bakteriologischen Untersuchungsergebnisse.

Was nun die Krankheitsfälle betrifft, so ist zunächst hervorzuheben, daß von der ungefähr 100 Mann starken Abteilung im ganzen 50 Leute erkrankt sind. Von diesen erwiesen sich aber in der Folge nur 36 als cholerakrank; 2 waren Bazillenausscheider, und der Rest betraf andere

Erkrankungen, welche aber zur Epidemie in Beziehung stehen, wie noch weiter ausgeführt werden soll.

Die nach den obigen Ausführungen gerechtfertigte Annahme, daß sich die Leute ungefähr gleichzeitig infiziert haben, legt den Versuch einer Berechnung der Inkubationsdauer nahe.

Der infizierte Salat wurde am 7. April gegessen.

Von den 32 Kranken, bei welchen in der Untersuchungsstelle Cholera bakteriologisch nachgewiesen wurde, sind nach Mitteilung der behandelnden Aerzte erkrankt:

am 8. April	1 Kranker	am 12. April	1 Kranker
" 9. "	4 Kranke	" 13. "	6 Kranke
" 10. "	6 "	" 14. "	3 "
" 11. "	9 "	" 15. "	1 Kranker

Bei einem Kranken (Bazillenausscheider) ließ sich ein Erkrankungs-tag nicht feststellen.

Nach der vorstehenden Verteilung des Zeitpunktes der Erkrankung liegt die Annahme nahe, daß nur ein Teil der Leute, etwa die bis 11. oder 12. April Erkrankten, infolge des Genusses des Salats bzw. des verseuchten Wassers erkrankt sind, während man bei den übrigen an eine sekundäre Kontaktinfektion denken muß. Danach würde sich die Inkubationszeit auf 1—5 Tage, unter Berücksichtigung aller Fälle auf 1—8 Tage berechnen.

Nimmt man für alle Fälle eine gemeinsame Infektion am 7. April an und ordnet man sie nach der Schwere der Erkrankung, so ergibt sich, daß die schweren Fälle anscheinend eine kürzere, die leichteren Fälle eine längere Inkubationszeit haben, und zwar ergeben sich für die Gruppe der Schwerkranken und Gestorbenen  $3\frac{1}{2}$ , für die der Leichtkranken etwas über 5 Tage. Mit anderen Worten: die später Erkrankten waren leichter erkrankt.

Ob man annehmen darf, daß den früh Erkrankten etwa mehr Krankheitserreger einverleibt wurden, oder ob ihre Resistenz geringer war, ist natürlich nicht zu entscheiden.

Nimmt man an, daß die später Erkrankten die Fälle mit Kontaktinfektionen darstellen, so ergäbe sich, daß die Wasserinfektion die schwereren, die Kontaktinfektion die leichteren Erkrankungen verursachte.

Baerthlein und Grünbaum konnten ebenfalls feststellen, daß bei jedem neu eintreffenden infizierten Gefangenentransport die zuerst auftretenden Cholerafälle am schwersten verliefen und die nachfolgenden Fälle deutlich an Schwere abnahmen. Sie suchen die Hauptursache dafür in der sofort nach dem Eintreffen des Transportes durchgeführten Schutzimpfung, daneben in der Erhöhung der körperlichen Widerstandsfähigkeit durch die besseren gesundheitlichen Bedingungen im Lager gegenüber dem Felde.

Es ist sehr wohl möglich, daß auch bei den hier besprochenen Fällen die Schutzimpfung einen günstigen Einfluß auf den Verlauf der Erkrankung ausübte; denn auch hier wurden nach Feststellung der ersten Cholerafälle die übrigen Insassen des Quartiers alsbald vom Truppenarzt gegen Cholera geimpft.

Die ersten Erkrankungen imponierten als Paratyphus. Die Leute boten zunächst meist nur leichte Krankheitserscheinungen. Auch machten die zuerst eingesandten Stuhlproben durchaus nicht den Eindruck von Cholerastühlen. Erst am 3. Tage kamen 6 typische Cholerastühle zur

Beobachtung. Auch die später eingesandten Stuhlproben waren wieder breiig bis fest und gefärbt.

Gerade wegen dieses anscheinend leichten Verlaufes kamen zunächst nicht von allen Erkrankten Stühle zur bakteriologischen Untersuchung. So fehlt die bakteriologische Untersuchung bei 3 Leuten, welche in den ersten Tagen starben. Klinisch soll bei ihnen jedoch zuletzt Cholera vorgelegen haben. Von einer Reihe anderer Kranken kamen die Dejekte erst im späteren Verlauf der Erkrankung zur Untersuchung. Immerhin konnten noch bei 31 Kranken bzw. Bazillenausscheidern aus den Stühlen, bei einem Verstorbenen aus der Galle Choleravibrionen nachgewiesen werden. Bei 3 weiteren, deren Stühle in einer anderen Untersuchungsstelle untersucht wurden, wurden dort Choleravibrionen gefunden. Es wurden demnach in allen Fällen, welche klinisch Cholera hatten und die überhaupt zur bakteriologischen Untersuchung kamen. Choleravibrionen nachgewiesen; außerdem bei 2 Bazillenausscheidern. Dabei gelang in 29 von den 31 Fällen der Nachweis aus der ersten eingesandten Stuhlprobe, nur in 2 Fällen erst bei wiederholter Untersuchung. Die Stühle wurden nur in etwa 8-tägigen Pausen eingesandt; und so erklärt es sich, daß nur bei 2 Kranken der Nachweis wiederholt gelang. Die choleravibrionenhaltigen Stühle stammten von folgenden Krankheits-tagen: 8 vom 1., 1 vom 2., 3 vom 3., 4 vom 4., 3 vom 5., 4 vom 6., 3 vom 7., 3 vom 8., 1 vom 11., und 1 vom 17. Später wurde trotz mehrfacher Nachuntersuchung ein positiver Befund nicht mehr erhoben. Immerhin zeigen auch diese Fälle, daß, wie Paltauf, Weißkopf und Huschmann und v. Daranyi ausführten, das gegenwärtig bestehende 5-tägige Quarantänesystem viel zu kurz bemessen ist und ohne bakteriologische Untersuchung jeder verlässlichen Grundlage entbehrt.

Neben dem erwähnten leichten Verlauf im Beginn trat bald eine andere Eigentümlichkeit dieser Krankheitsfälle, nämlich eine auffallend hohe Zahl von Mischinfektionen zutage. So fiel eines Tages gelegentlich der Nachuntersuchung eines Stuhles auf, daß die Kulturplatte nicht den typischen Cholerageruch, sondern den der Dysenterie eigentümlichen Sperrmageruch bot; und tatsächlich wurden aus diesem Stuhl dann Dysenteriebazillen vom Typus Flexner gezüchtet. In der Folge gelang es, bei 2 weiteren Cholerarekonvaleszenten gleichartige Keime zu isolieren. Klinisch hatte einer dieser Kranken eine schwere Dysenterie: ein zweiter bot nur stärkere enteritische Erscheinungen, während bei dem dritten alle klinischen Zeichen der Ruhr fehlten. Andererseits machte ein vierter Kranker eine 1-tägige Ruhr durch, ohne daß sich in dem Stuhl Ruhrerreger nachweisen ließen. Gegen die Annahme Canavans, daß der Flexner-Typ ein normaler Darmbewohner sei, spricht in unseren Fällen der Umstand, daß gerade bei diesen Kranken dysenterische Erscheinungen vorlagen, die in den übrigen Fällen nur 1mal, und zwar nur an 1 Tage beobachtet wurden. Auch das Verhalten der Agglutination spricht gegen einen zufälligen Befund. Alle 3 Kranke, bei denen Flexner-Bazillen nachgewiesen wurden, agglutinierten mit ihrem Blutserum einen Flexner-Laboratoriumsstamm in Verdünnung 1:200, der klinisch Nichtkranke außerdem den eigenen Flexner-Stamm bis 1:400.

Bei der bakteriologischen Diagnose „Dysenterie“ wurde nach dem Grundsatz verfahren, daß als Ruhrerreger nur solche plumpe, unbewegliche Stäbchen angesehen wurden, welche auf Drigalski- und Endo-Nährboden typisch wuchsen, Traubenzucker nicht vergärten, Lackmuspulver leicht röteten, ohne sie zu trüben, auf Saccharose-, Mannit-

und Maltosenährboden sich typisch verhielten und mit hochwertigem agglutinierenden Serum bis annähernd zur Titergrenze agglutiniert wurden. Außer den 3 erwähnten Stämmen wurden aus einer Reihe von Stuhlproben Keime gezüchtet, welche mit Ausnahme der Agglutination alle erwähnten Eigenschaften der Ruhrerreger besaßen. Sie wurden jedoch hier nicht berücksichtigt. Ob es sich dabei etwa um den Stamm III von Sonne-Baerthlein handelte, mag dahingestellt sein.

Ferner fiel den behandelnden Aerzten auf, daß nach Abklingen der eigentlichen Choleraausscheidungen bei einer Reihe von Kranken das Bild einer typhösen Erkrankung in den Vordergrund trat. Der Uebersicht halber seien die einzelnen Fälle, bei denen in der Folge meist auch ein bakteriologischer Befund gewonnen wurde, hier mitgeteilt:

- Sch. Fieber seit dem 21. Choleratage; am 24. Tage Typhuserreger aus dem Blut, am 31. und 37. aus dem Stuhl gezüchtet;  
 F. Fieber seit dem 16. Choleratage; am 17. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut;  
 K. Fieber seit dem 21. Choleratage; am 25. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut;  
 B. Fieber seit dem 10. Choleratage; am 39. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Stuhl;  
 D. Fieber seit dem 14. Choleratage; am 21. und 24. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut, am 22. aus dem Stuhl;  
 P. Fieber seit dem 23. Choleratage; am 31. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut;  
 H. Fieber seit dem 22. Choleratage; am 23. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut, am 32. aus dem Stuhl;  
 Kr. Fieber seit dem 30. Choleratage; am 42. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut;  
 S. Fieber seit dem 45. Choleratage; am 38. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Stuhl;  
 O. Fieber seit dem 18. Choleratage; am 22. und 27. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut, am 27. und 35. aus dem Stuhl;  
 St. Fieber seit dem 21. Choleratage; am 43. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Stuhl;  
 Di. Fieber seit dem 11. Choleratage; am 13. Tage Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut;  
 Be. Fieber seit dem 13. Choleratage; Krankheitsbild wie bei den vorigen, kein bakteriologischer Befund;  
 H. Fieber seit dem 7. Choleratage; am 14. und 26. Tage Paratyphus B-Bazillen aus dem Stuhl;  
 R. Fieber seit dem 13. Choleratage; am 17. und 21. Tage Paratyphus B-Bazillen aus dem Stuhl.

Bei dem letzten Kranken war das Einsetzen der sekundären Erkrankung nicht genau zu bestimmen; es äußerte sich in zunehmenden enteritischen Erscheinungen. Es ist dieser Kranke übrigens auch einer von denen, bei welchen Dysenterieerreger nachgewiesen wurden, und im Stuhl vom 17. Cholerakrankheitstage wurden gleichzeitig Dysenterie Flexner- und Paratyphus B-Bazillen gefunden.

Daß auch bei den typhösen Erkrankungen eine gemeinsame Ansteckungsquelle vorgelegen hat, geht daraus hervor, daß ungefähr zur gleichen Zeit einige Leute desselben Truppenteils, die bis dahin gar nicht im Lazarett waren, da sie nicht Cholera durchgemacht haben, an Paratyphus A bzw. B erkrankten.

- Rü. Fieber seit dem 22. Tage nach der ersten Choleraerkrankung; am 30. Tage wurden Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut gezüchtet;  
 Scho. Fieber seit dem 21. Tage nach der ersten Choleraerkrankung; am 25. Tage Paratyphus A aus dem Blut, am 50. aus dem Stuhl;  
 Hei. Fieber und Krankheitsbild wie Paratyphus A, aber kein bakteriologischer Befund;  
 Sche. Fieber seit dem 12. Tage nach der ersten Choleraerkrankung; am 23. Tage Paratyphus B aus dem Stuhl.

Ein Kranker, W., wurde zwar am 9. April, also am 3. Tage nach der ersten Choleraerkrankung, wegen enteritischer Erscheinungen ins Lazarett aufgenommen, aber nach einigen Tagen wieder entlassen. Er

erkrankte am 28. Tage an einem typhösen Zustand; und am 30. Tage wurden Paratyphus A-Bazillen aus dem Blut nachgewiesen.

Auch der Krankheitsverlauf der einzelnen Fälle, über den aber von anderer Seite berichtet werden soll, deutet darauf hin, daß bei den Cholerakranken die Infektion mit der sekundären Erkrankung zu einem sehr frühen Zeitpunkt anzusetzen ist. Es liegt somit die Annahme nahe, daß die Erkrankungen an Typhus, Paratyphus A und B und Dysenterie Flexner auf dieselbe Quelle wie bei der Cholera zu beziehen sind, eine Annahme, der sich die aufeinander folgenden Erkrankungen Cholera, Dysenterie, Typhus unter im allgemeinen guter Einhaltung der Inkubationszeiten zwanglos fügen.

Die auf den Nachweis von Typhus-, Paratyphus- und Ruhrerregern aus dem verseuchten Wasser abzielenden Versuche haben allerdings ein positives Resultat nicht ergeben. Dies mag seinen Grund einerseits in der Schwierigkeit des Nachweises dieser Erreger aus stark verunreinigten Wässern überhaupt haben, da wir für den Nachweis ein so elektives Anreicherungsverfahren wie für Cholera nicht besitzen. Es ist aber auch möglich, daß infolge des zur Zeit der Untersuchungen einsetzenden starken Regens die Wasserläufe des Tales zu sehr ausgewaschen und die keimhaltige Flüssigkeit zu sehr verdünnt wurde. Die Möglichkeit einer Verunreinigung des Wassers durch die genannten Krankheitserreger ist nach den örtlichen Verhältnissen jedenfalls gegeben; und auch die Tatsache, daß wiederholt *Faecalis alcaligenes* daraus nachgewiesen wurde, spricht dafür.

Nach den Ausführungen E. Lehmanns kommt zwar den Nahrungsmitteln und dem Wasser bei der Entstehung von Paratyphus A-Epidemien nur geringe Bedeutung zu. In fast allen von diesem Verfasser zusammengestellten Paratyphus A-Epidemien konnten Paratyphus A-Ausscheider als Ausgänge ermittelt werden. Trotzdem erscheint die Annahme der Wasserinfektion in den vorliegenden Fällen wahrscheinlicher. Denn die Fälle traten in einer ziemlich scharf umschriebenen Zeitspanne auf; weder vorher waren bei dem Truppenteil auch nur vereinzelte Paratyphus A-Fälle vorgekommen, noch traten nachher solche auf, ohne daß etwa ein Bazillenträger ermittelt und ausgeschieden worden wäre. Gleichzeitig steht nach obigen Ausführungen fest, daß die Leute sich Wasser, das mit menschlichen Ausscheidungen, wahrscheinlich sogar Lazarettabwässern, verunreinigt war, einverleibt hatten.

Der Umstand, daß unter den mit typhösen Erscheinungen Erkrankten sich auch ein echter Typhus Eberth befand, läßt die Vermutung entstehen, daß das Wasser wohl auch mit *B. typhi* verunreinigt war. Daß trotzdem nur 1 Mann an echtem Typhus erkrankt ist, könnte als Wirkung der Typhusschutzimpfung angesehen werden; indessen kann bei der Unsicherheit der gerade hier vorliegenden Verhältnisse aus einem einzelnen Vorkommnis keinerlei Schluß gezogen werden.

Bei allen Kranken mit Mischinfektionen und zwar bei den meisten wiederholt wurde die Gruber-Widalsche Reaktion angestellt. Im allgemeinen war ein langsames Ansteigen und späteres Abfallen des Titers für den jeweiligen Infektionserreger festzustellen, z. B.:

bei	D. am 8. Tge. d. Parat. A-Erkr. f. Typh. 0,	Parat. A 0,	Parat. B 0,	eigen. Parat. A-Stamm 0
" " " 20.	" " " " " 50,	" 0,	" 0,	" " " 0
" " " 25.	" " " " " 100,	" 0,	" 50,	" " " 50
" " " 33.	" " " " " 200,	" 400,	" 200,	" " " 100
" " " 44.	" " " " " 100,	" 100,	" 100,	" " " 100
" Schr. " 4.	" " " " " 0,	" 0,	" 0,	" " " —
" " " 8.	" " " " " 200,	" 50,	" 200,	" " " —
" " " 12.	" " " " " 100,	" 50,	" 800,	" " " —
" " " 24.	" " " " " 100,	" 0,	" 800,	" " " 1000

Wenngleich die meisten Fälle ein derartiges Verhalten der Agglutinationskurve erkennen ließen, wobei der Ablauf bei Paratyphus B viel schneller als bei Paratyphus A zu sein schien, so gab es doch Fälle, die anscheinend überhaupt keine spezifischen Agglutinine bildeten. Selbst in den ausgesprochensten Fällen, wie den angeführten, wäre es kaum möglich und angängig, lediglich auf den Ausfall der Gruber-Widal'schen Reaktion, selbst der mehrmals ausgeführten, hin eine Diagnose zu stellen. Auch ließen sich keinerlei Beziehungen ermitteln, welche Schlüsse auf Verlauf, Rezidive, Prognose usw. zuließen. Diese Verhältnisse scheinen bei schutzgeimpften Leuten eben sehr kompliziert zu sein.

Ueber den Verlauf der Erkrankungen selbst soll, wie bereits erwähnt, von anderer Seite berichtet werden.

Von den Kranken erlagen im ganzen 12 der Cholera, und zwar am 1., 2., 4., 5., 6., 6., 8., 9., 10., 11., 12. und 19. Krankheitstage. Es sind demnach 31,6 Proz. von den Cholerakranken einschließlich der Bazillenausscheider oder 34,3 Proz. der eigentlich Erkrankten gestorben. Die Leute waren sehr ungleich gegen Cholera geimpft. Die Zeit seit der letzten Impfung betrug, soweit sie sich feststellen ließ, durchschnittlich 10½ Monate; sie schwankte aber bei den einzelnen von 3 bis 18 Monaten: 2 Mann waren überhaupt nicht gegen Cholera geimpft. Von letzteren ist der eine gestorben; der andere machte eine mittelschwere Cholera durch. Wenn auch eine Beziehung zwischen dem Abstände der letzten Choleraschutzimpfung und der Schwere der Erkrankung nicht zu erkennen ist, so kann man sich doch des Gedankens nicht erwehren, daß eine längere Zwischenpause zwischen den Nachimpfungen als 3 Monate einen nur unvollkommenen Impfschutz gewährt.

Eine Erklärung für den zum Teil erst recht spät einsetzenden letalen Ausgang geben einige Fälle, bei welchen offenbar schon eine typhöse Erkrankung bestanden hatte. So hatte der eine von den beiden am 6. Cholerakrankheitstage Verstorbenen bereits vom 2. Cholerakrankheitstage an Fieber. Der am 19. Cholerakrankheitstage Verstorbene bot, nachdem er zuerst eine schwere Cholera durchgemacht hatte, während der letzten 8 Tage ein fieberhaftes Krankheitsbild. Blut wurde von ihm nicht eingesandt. Bei der Leichenöffnung fand sich ein Hydrops der Gallenblase. Aus der Galle wurden Choleravibrionen, nicht aber Typhusbazillen gezüchtet. Trotzdem liegt namentlich in Hinblick auf die übrigen, später zutage getretenen Mischinfektionen die Annahme nahe, daß es sich bei den spät eingetretenen tödlichen Ausgängen weniger um eine direkte Folge der Cholera als um eine solche der bereits eingesetzten typhösen Komplikation handelte.

Ueberblickt man die kleine Epidemie, so ergeben sich folgende Tatsachen:

Im Quartier befanden sich 97 Mann. Davon sind in der hier in

Betracht kommenden Zeit 47 Mann in keiner Weise erkrankt. Von den übrigen 50 Mann sind

- 35 an Cholera erkrankt, und zwar
  - 12 mit tödlichem Ausgang, davon 2 mit wahrscheinlich typhöser Komplikation,
  - 12 schwer, aber ohne tödlichen Ausgang; davon 10 mit typhöser und 1 gleichzeitig dysenterischer Komplikation, 1 nur mit Dysenterie,
  - 11 leicht, davon 4 mit typhöser, 1 mit dysenterischer Komplikation,
- 3 als Cholerabazillenausscheider, davon 1 mit typhöser und gleichzeitig dysenterischer Komplikation,
- 4 mit leichter Gastroenteritis ohne bakteriellen Befund, davon 1 später typhöse Erkrankung,
- 4 zunächst ohne Erscheinungen, aber später typhöse Erkrankungen,
- 4 nur mit subjektiven Beschwerden, auch später nicht erkrankt.

Die 50 Mann lassen sich demnach in folgende Gruppen einteilen:

1. nur mit Cholera infiziert	20 = 40 Proz.
2. nur mit Typhus oder Paratyphus A bzw. B infiziert	5 = 10 „
3. mit Cholera + Typhus bzw. Paratyphus infiziert	14 = 28 „
4. mit Cholera + Paratyphus + Dysenterie infiziert	3 = 6 „
5. mit Cholera + Dysenterie infiziert	1 = 2 „
6. nur Gastroenteritis ohne bakteriologischen Befund	3 = 3 „
7. nur subjektive Beschwerden ohne Befund	4 = 4 „

Ohne Rücksicht auf das Zusammentreffen verschiedener Krankheiten ausgedrückt, hatten

76 Proz. der Erkrankten Cholera,
44 „ Typhus, Paratyphus A und B.
8 „ Dysenterie.

Mischinfektionen wurden bei Cholera schon ziemlich häufig beobachtet. So wurde nach Jochmann gelegentlich der Hamburger Epidemie relativ oft die Komplikation mit Typhus gesehen, meist so, daß an den Choleraanfall der Typhus sich anschloß. Mehrfach wurde das Vorkommen von Mischinfektionen bei Cholera besonders während des gegenwärtigen Krieges betont; ja, es wurde geradezu als ein Charakteristikum der Kriegsinfektionen bezeichnet. So beschrieben Bujwid und Arzt, Salus, Walko, Gildemeister und Baerthlein, Ruß, Aronson, Jastrowitz und Baerthlein und Grünbaum mehr oder weniger zahlreiche Mischinfektionen bei Cholera mit Typhus, Dysenterie und anderen Infektionskrankheiten. Walko sieht die Erklärung für das Zustandekommen mehrfacher Infektionen, namentlich mit Cholera, Typhus und Ruhr, in der gemeinsamen Eintrittspforte, ferner in der erhöhten Empfindlichkeit der Darmschleimhaut bei schon bestehender Darm-erkrankung, sowie in der Herabsetzung der allgemeinen Resistenz des Organismus durch eine bereits bestehende Erkrankung. Meines Erachtens ist ein weiterer wichtiger Punkt der, daß gerade unter den Verhältnissen des Krieges Wasser und Nahrungsmittel zur gleichen Zeit mit verschiedenen Erregern verunreinigt werden können. Es sind mehrfach Fälle beschrieben, in denen, wie z. B. bei dem von Löwenstein mitgeteilten Falle, das Wasser einer Pferdeschwemme, die sich oberhalb eines Schwimmbades befand, durch Dysenterie- und Typhusbazillen verunreinigt war. Unter den Bedingungen des Krieges ist es eben leicht möglich, daß Ausscheider der verschiedensten Krankheitskeime gleichzeitig zur bakteriellen Verunreinigung des Wassers beitragen, wie dies bei der hier beschriebenen Epidemie wahrscheinlich durch die Insassen eines Seuchenlazarets in ausgiebigster Weise der Fall war.

Bei einigen der in der Literatur niedergelegten Fälle handelte es sich allerdings nur um rein bakteriologische Komplikationen in dem



Sinne, daß die eine der Erkrankungen einen Bazillenträger betroffen hatte. Bei den hier beschriebenen Mischinfektionen dagegen bestanden auch klinisch die ausgeprägten Zeichen der verschiedenen beteiligten Infektionen. Höchstens in dem einen Dysenteriefalle könnte man annehmen, der bakteriologische Nachweis der Flexner-Bazillen sei ein zufälliger Befund gewesen; doch spricht auch hier das Verhalten der Agglutination mit dem Serum des Kranken gegen diese Annahme.

Ferner unterschieden sich die hier mitgeteilten Fälle dadurch von der Mehrzahl der bisher beschriebenen Fälle, daß man bei ihnen eine zur gleichen Zeit erfolgte Infektion annehmen konnte, wie das sehr deutlich in den verschiedenen Zeitpunkten des Ausbruches der Erkrankung, je nach der jeweiligen Inkubationsdauer, zum Ausdruck kam. Ganz ähnlich sind die 3 Fälle von Mischinfektion von Cholera und Typhus, welche Weißkopf und Herschmann mitteilten. Auch hier trat der längeren Inkubationszeit entsprechend der Typhus erst im Verlauf der Cholerarekonvaleszenz auf. In der Mehrzahl der Fälle der Literatur dagegen handelt es sich um das gleichzeitige Bestehen verschiedener Erkrankungen, was natürlich zu verschiedenen Zeiten gesetzte Infektionen bedeutet.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß zwar zahlreiche Fälle von Cholera mit Typhus und Cholera mit Ruhr, auch einige Fälle von Cholera mit Paratyphus B beobachtet und beschrieben wurden, daß jedoch die Komplikation von Cholera mit Paratyphus A, zumal in dieser Ausdehnung, die gewissermaßen eine Doppelpestepidemie darstellt, bisher in der Literatur nicht verzeichnet wurde.

#### IV. Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Methode.

Wie bereits oben mitgeteilt, wurden in allen Fällen, welche klinisch Cholera hatten und die überhaupt zur Untersuchung kamen, Cholera-vibrionen nachgewiesen. Diese Tatsache, sowie der Umstand, daß die Ermittlung der Bazillenausscheider und die Absperrung der Genesenen bis zum dreimaligen negativen Befund genügte, um jede weitere Erkrankung zu verhüten, spricht für eine große Zuverlässigkeit der angewandten Choleradiagnostik.

Den 3 bakteriologisch ermittelten Fällen von Dysenterie entsprachen nur 2 klinisch; andererseits gelang in einem 4. Falle mit einem allerdings nur 1-tägigen ruhrartigen Krankheitsbilde der Nachweis von Erregern nicht.

Bei 20 der 22 unter typhösen Erscheinungen Erkrankten wurden Blut- und Stuhlproben eingeschickt; bei 18, also in 90 Proz. der Untersuchten, gelang die Züchtung des Erregers, und zwar in 13 Fällen = 65 Proz. aus dem Blut, in 10 Fällen = 50 Proz. aus dem Stuhl, in 5 Fällen = 25 Proz. aus Blut und Stuhl.

Im ganzen gab also die bakteriologische Untersuchung auch beim Typhus recht gute Resultate; und man braucht den Pessimismus von Schmitz bezüglich der Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose durchaus nicht zu teilen.

Denkbar wäre allerdings, daß die vorausgegangene Cholera schon etwas elektiv gewirkt hat, insofern als durch sie eine große Anzahl von konkurrierenden Keimen aus dem Darm entfernt wurde. Diese Annahme könnte jedoch nur für die Stuhluntersuchungen herangezogen wer-

den. Ob sonst durch die Komplikation die Verhältnisse für den Nachweis günstig beeinflußt wurden, sei dahingestellt.

Einen erheblichen Anteil an dem guten Erfolg der Untersuchungen glaube ich der Verwendung des Bitterschen Chinablau-Malachitgrün-agars zuschreiben zu müssen, eines Nährbodens, der sich durch seine elektive Wirkung für Keime der Typhusgruppe und seine deutliche Farb-reaktion uns vorzüglich bewährt hat.

#### V. Untersuchungen über die während der Epidemie gezüchteten Cholerastämme.

Besonders in den ersten Tagen der Epidemie wurde von den handelnden Aerzten mit Rücksicht auf den anscheinend leichten, verzögerten Verlauf wiederholt die Frage ausgesprochen, ob die gezüchteten Cholerastämme irgendwelche biologischen Besonderheiten zeigten.

Diese Frage mußte verneint werden. Die gezüchteten Keime erwiesen sich als echte Vibrionen, sie wuchsen typisch auf dem Dieudonné- und Alkaliagarnährboden, hatten den typischen Geruch, agglutinierten mit allen angewandten agglutinierenden Choleraseren in der Probeagglutination sofort und bei der großen Agglutination annähernd bis zur Titergrenze. Zudem fiel der mit den aus den Wasserproben gezüchteten Stämmen angestellte Pfeiffersche Versuch einwandfrei positiv aus. Später wurde auch mit einigen aus den Stühlen gezüchteten Stämmen der Pfeiffersche Versuch angestellt, ebenfalls mit positivem Ergebnis.

Die erwähnten scheinbaren Eigentümlichkeiten ließen sich in der Folge durch das Auftreten der mannigfachen Komplikation restlos erklären.

Trotzdem wurden nach Abschluß der Erkrankungen, also Mitte Mai 1917 beginnend, die sämtlichen gezüchteten Stämme, nämlich 31 aus Stühlen, 1 aus Leichengalle, 3 aus Wasser, nochmals eingehenden Untersuchungen ihrer morphologischen, chemischen und biologischen Eigenschaften unterworfen. Um etwaige Abweichungen von der Norm leichter feststellen und Beeinflussungen durch Nährboden, Reagentien, Seren und Technik ausschließen zu können, wurden gleichzeitig 6 ältere Cholerastämme der Kaiser Wilhelms-Akademie und des Instituts für Infektionskrankheiten, ferner 8 hier im Jahre 1916 gezüchtete Cholerastämme, von denen einer aus Smyrna stammte, endlich 4 uns von Herrn Professor V. Schilling im Sommer 1916 aus Aleppo mitgebrachten Cholerastämme mituntersucht. Gleichzeitig wurden mehrere choleraähnliche Wasservibrionen- und Alcaligenes-Stämme untersucht.

Die Untersuchung bezog sich auf Morphologie, Wachstum auf Gelatine im Ausstrich und in Stichkulturen, Wachstum in Lackmusmolke, Prüfung auf Hämolyse und Agglutination.

Alle 52 Cholerastämme stellten gekrümmte, kurze, gramnegative Stäbchen dar, bei welchen die Form der Kommabazillen mehr oder weniger deutlich ausgesprochen war, und welche in Peptonwasserkultur die den Vibrionen eigentümliche Beweglichkeit zeigten.

Sämtliche 52 Cholerastämme wuchsen typisch auf Gelatine sowohl in der Ausstrich- als auch in der Stichkultur und verflüssigten sie. Die Verflüssigung trat in allen Fällen nach etwa 48 Stunden auf. Im allgemeinen zeigten die älteren Stämme schwaches Wachstum und wenig Verflüssigung, während die frischen Stämme üppiger wuchsen und stärker

verflüssigten. Jedenfalls verflüssigten alle frischen Stämme stark; von den älteren Stämmen verflüssigten stark 1 alter Berliner Stamm und 4 der Konstantinopler Stämme von 1916.

Das Wachstum der untersuchten Stämme in Lackmusmolke wurde 14 Tage lang bei 37° beobachtet. Es wurde in je 5 ccm von Kahlbaum bezogener Lackmusmolke eine Oese des Materials geimpft. Die Alcaligenes-Stämme färbten innerhalb 24 Stunden die Lackmusmolke blau und trübten sie. Die Molke blieb dauernd blau. Die choleraähnlichen Vibrionen dagegen röteten und klärten sie nach vorübergehender leichten Bläuung und Trübung, so daß nach etwa 48 Stunden die Flüssigkeit blaßrot und klar war. Die 52 Cholerastämme verhielten sich ziemlich verschieden. Bei allen trat zwar nach mehr oder weniger langer und intensiver Blaufärbung eine hellrote Färbung ein. Aber der Zeitpunkt des Eintritts der Blaufärbung, des Umschlags in die Rötung, die Intensität der Blau- und Rotfärbung sowie der Grad der dabei auftretenden Trübung waren großen Schwankungen unterworfen. Auch hierbei schien im allgemeinen das Alter der Stämme von Bedeutung zu sein. Bei 5 von den ältesten, den Berliner Stämmen, trat der Umschlag von Blau in Rot zwischen der 24. und 48. Stunde ein; nur bei einem fand er erst in der Zeit von der 72. bis zur 96. Stunde statt. Bei den Stämmen von 1916, sowie den frisch gezüchteten ließen sich 2 Gruppen unterscheiden: bei der weitaus größten, nämlich bei 42 von 47, trat der sehr deutliche Umschlag in der 96.—120. Stunde, also im Verlaufe des 5. Tages ein; bei der kleineren Gruppe, nämlich bei 5 von 47, trat er sehr früh und undeutlich, aus schwach Blau und Rotviolett in Rot, im Laufe des 1. oder 2. Tages ein. Es gelang mir nicht, die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens aufzuklären. Die Stämme verhielten sich sonst bezüglich Morphologie, Wachstum auf Gelatine und Agglutination vollkommen wie die größere Gruppe. Auch bezüglich der Pathogenität ließ sich kein Unterschied nachweisen. Ueber einen der Stämme, der aus Aleppo stammt, kann ich allerdings keine näheren Angaben machen; aber von den übrigen erzeugte einer eine tödlich verlaufende, zwei eine schwere und einer eine ganz leichte Erkrankung. Mit Ausnahme des Aleppoer Stammes gehörten sie zu den während der hier beschriebenen Epidemie gezüchteten Cholerastämmen, welche sich sonst auch in ihrem Verhalten in Lackmusmolke wie die übrigen Kontrollstämme verhielten.

Im allgemeinen stimmen die Ergebnisse dieser Untersuchung mit denen von Gaetgens überein und bestätigen seine Angabe, daß die Lackmusmolke zur Differenzierung von Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen ungeeignet sei, daß sie dagegen ein vorzügliches Erkennungsmittel für gewisse Alcaligenes-Stämme sei, die durch ihre Vibrionenform zu Trugschlüssen Anlaß geben könnten.

Entsprechend den in der Literatur berichteten Hämolyseversuchen habe ich ferner Versuche mit flüssigen und festen Medien angestellt, und zwar mit den 52 Cholerastämmen verschiedener Herkunft und verschiedenen Alters, mehreren choleraähnlichen Wasservibrionen- und Alcaligenes-Stämmen, einem Pyocyaneus-, einem Staphylococcus aureus-Stamme und dem Weil-Felixschen Proteus-Stamm x 19.

Zunächst habe ich entsprechend den Versuchen von Baerthlein je 1 ccm Kochsalzlösung mit je  $\frac{1}{8}$  Oese der zu prüfenden Kultur mit 5 ccm einer frisch gewaschenen 5-proz. Hammelblutkörperchen-Aufschwem-

nung versetzt und die Mischung dann bei 37° beobachtet. Von den Cholerastämmen zeigte keiner innerhalb der ersten 3mal 24 Stunden Hämolyse. Erst nach 4 Tagen trat bei einigen eine Spur Hämolyse auf: nach 7 Tagen war sie bei den meisten deutlich. Ebenso zeigten in den ersten 3 Tagen keine Spur Hämolyse die *Alcaligenes*- und *Vibrionen*-stämmen sowie der *Staphylococcus aureus*-Stamm. Deutliche Hämolyse dagegen war schon in den ersten 24 Stunden bei dem *Pyocyanus* und dem x 19-Stamm zu beobachten.

Der von Löwy angegebene Versuch mit Bouillon stellt außerordentlich hohe Anforderungen an die Zentrifuge. Ich habe ihn deshalb in folgender Weise modifiziert: Je 4,9 ccm frisch sterilisierter Bouillon wurden mit je einer Oese der zu untersuchenden Kultur beimpft und darauf 5 Tage im Brutschrank bei 37° gehalten. Nach Ablauf dieser Zeit wurde zu jedem Gläschen 0,1 ccm von hochwertigem, agglutinierendem Serum (Institut für Infektionskrankheiten, Titer 1:5000) in Verdünnung 1:50 zugefügt, so daß die ganze Menge eine Verdünnung 1:2500 darstellt. Nach Umschütteln wurde die Bouillon noch 1 Stunde in den Brutschrank, hierauf über Nacht in den Eisschrank gestellt. Am nächsten Morgen wurde von der nun geklärten oberen Schicht je 1 ccm abgehoben und mit 2 ccm frisch gewaschener 5-proz. Hammelblutkörperchen versetzt, 1 Stunde bei 37°, dann bei Zimmertemperatur (hier ca. 25°) beobachtet. Kontrollen wurden, abgesehen mit den oben erwähnten Stämmen, auch mit Bouillon und agglutinierendem Serum und mit Bouillon allein angestellt. Da das zu den Nichtcholerastämmen zugesetzte agglutinierende Choleraserum hier natürlich keine Agglutination und Klärung bewirken konnte, wurden diese Stämme je 10 Minuten mit der elektrischen Zentrifuge scharf zentrifugiert. Wie mit der geklärten Bouillon angelegte Kontrollröhrchen erwiesen, waren weder die Cholera- noch die übrigen Röhrchen keimfrei. Was nun das Ergebnis anlangt, so war bei keinem der Cholerastämme nach 24 Stunden eine Spur Hämolyse zu beobachten; meist trat erst am 3. Tage und später etwas Hämolyse auf. Auch die *Alcaligenes*- und *Vibrionen*-stämmen sowie der *Staphylococcus aureus*-Stamm zeigten in den ersten Tagen keine Spur Hämolyse. Deutliche Hämolyse dagegen war schon im Laufe der ersten Stunden beim *Pyocyanus*- und beim x 19-Stamme zu beobachten.

Die Versuche mit flüssigen Medien zeigten demnach übereinstimmend, daß keiner der nach Alter und Herkunft so verschiedenen 52 Cholerastämme Hämotoxine bildete oder solche im Laufe der 5-tägigen Bouillonkultur an die Bouillon abgegeben hatte.

Durchaus nicht so eindeutige Ergebnisse erzielte ich mit Blutplatten. Zunächst erhielt ich stets eine grüne Zone um die Strichkultur, wie sie van Loghem als „Hämodigestion“ beschrieb. Da ich im Anschluß an die Ausführungen von Kraus, Löwy u. a. vermutete, daß diese grüne Zone auf einer vorhergegangenen Schädigung der roten Blutkörperchen beruhte, verwendete ich in einer Reihe von Vorversuchen teils nur defibriniertes Hammelblut, teils vorsichtig 2mal gewaschenes. Ferner wurde die Reaktion des verwendeten Agars besonders beachtet. Es wurden in verschiedenen Serien teils phenolphthaleinneutraler, teils lackmusneutraler, teils schwach alkalischer Agar verwendet. Der Agar wurde auf genau 42° abgekühlt, dazu das vorher vorsichtig auf 42° erwärmte defibrinierte Blut, bzw. die gewaschenen Hammelblutkörperchen im Verhältnis 1:10 gefügt, gemischt und zu Platten gegossen. Auf eine Petri-

Schale von 10 cm Durchmesser wurden 20 ccm von dieser Mischung ausgegossen. Die so mit phenolphthaleinneutralen Agar und defibriertem Hammelblut bereiteten Platten waren hellrot, während die übrigen fast alle sofort dunkel wurden.

Auf den dunklen Platten wuchsen die Cholerastämme mit einem mehr oder weniger breiten dunkelgrünen Hof, ebenso wie auf Platten, zu denen absichtlich mit destilliertem Wasser geschädigte Blutkörperchen verwendet wurden. Auf den hellroten Platten, also auf denen, deren Blutkörperchen anscheinend nicht geschädigt waren, wuchsen die Cholerastämme nicht einheitlich. Die Stämme der Epidemie von 1917 bewirkten in der Zeit von der 15. bis zur 24. Stunde eine schmale gelbgrüne Aufhellung, die sich in den folgenden Tagen verbreiterte und nach 5 Tagen eine Breite von  $1\frac{1}{2}$ —2 cm erreichte. Die älteren Stämme, insbesondere die aus Berlin mitgebrachten, zeigten in den ersten Tagen keine Veränderung; dann aber trat ebenfalls um die strichförmige Impfstelle eine gelbgrüne Aufhellung ein, die nach 5 Tagen  $\frac{1}{2}$ —1 cm breit wurde. Die Alcaligenes- und die Vibrionenstämme zeigten dieselbe Aufhellung wie die frisch gezüchteten Cholerastämme. In einer anderen Versuchsreihe wurden die Platten nicht frisch, sondern erst nach 2 Tagen mit Cholera beimpft. Die Impfstriche wurden in diesen Fällen bereits nach 24 Stunden zunächst von einem etwa 2 mm breiten grünen, dieser von einem etwa 2 mm breiten fast farblosen Hof umgeben. In den folgenden Tagen rückten beide Höfe sich verbreiternd nach außen; der farblose Teil wurde grün, so daß nach 6 Tagen der Impfstrich von einem 1 cm breiten grünen, dieser von einem etwa 3 mm breiten farblosen Hof umgeben war.

Die Prüfung auf Hämolyse mit festen Nährböden führte zu verschiedenen Ergebnissen, wie sie in der Literatur in den Befunden von van Loghem, Popoff-Tscherkasky, Baerthlein, Löwy u. a. niedergelegt sind. Es erscheint mir im Hinblick auf die Befunde mit flüssigen Medien durchaus wahrscheinlich, daß auch bei den besten erzielten Blutplatten aus bisher noch nicht geklärten Ursachen eine Schädigung der roten Blutkörperchen stattgefunden hat. Die Versuche mußten aus äußeren Gründen abgebrochen werden.

Was schließlich die Agglutination der Cholerastämme anlangt, so sei vorausgeschickt, daß hierzu 2 hochwertige Sera verwendet wurden, und zwar einmal solches vom Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ vom Jahre 1916, Titer 1:5000, und solches vom Kaiserlichen Gesundheitsamte vom Jahre 1917, Titer 1:10000. Als Kontrolle wurde physiologische Kochsalzlösung und Pferdeserum verwendet; die Kontrollen fielen in allen 52 Fällen negativ aus. Die Agglutination wurde stets mit 24-stündigen Kulturen im Laufe der Nachmittagsstunden angesetzt. Die Röhrchen wurden 2 Stunden bei 37°, dann bei Zimmertemperatur gehalten. Am nächsten Morgen wurde das Resultat mit der Lupe abgelesen. Im allgemeinen kann man sagen, daß die älteren Kulturen weniger leicht agglutinabel waren als die jüngeren. Die Stämme der Epidemie 1917 wurden durchschnittlich vom Serum des Instituts für Infektionskrankheiten bis zur Verdünnung 1:25000, von jenem des Kaiserlichen Gesundheitsamtes bis 1:6400 agglutiniert, während die älteren Stämme vom Serum des Instituts für Infektionskrankheiten bis 1:6400, von dem des Kaiserlichen Gesundheitsamtes bis 1:3200 agglutiniert wurden.

## VI. Ueber Paragglutination bei Cholera.

Im Anschluß an den Bericht über die Agglutinierbarkeit der verschiedensten Stämme von Cholera sei noch ein Fall von Paragglutination angefügt.

Der positive Ausfall der Agglutination gilt im allgemeinen mit Recht neben dem Pfeifferschen Versuch als das sicherste Merkmal echter Cholera. In der neuen, durch Bundesratssitzung vom 9. Dez. 1915 festgesetzten Anweisung zur Bekämpfung der Cholera wird sogar die Agglutination allein zur sicheren Feststellung als ausreichend gefordert. Die erwähnte Anweisung setzt dabei aber voraus, daß die zu prüfenden Keime als echte Vibrionen nachgewiesen sind, ein Umstand, der zur Vermeidung von Fehldiagnosen strengste Beachtung erfordert. Denn in letzter Zeit sind mehrfach, wenn auch relativ selten, Fälle von Paragglutination bei Coli- und anderen Stäbchen beschrieben worden.

So züchtete Quadflieg aus dem Stuhle eines unter Choleraverdacht erkrankten Mannes einen Coli-Stamm, der mit Choleraserum zwar nicht sofort, aber nach 4 Stunden eine fast ebenso starke Agglutination zeigte, wie echte Cholera; nur war sie in den Verdünnungen 1:1000 und 1:2000 nicht ganz so deutlich.

Messerschmidt isolierte aus etwa 1000 Stuhlproben ungefähr 20 Bakterienstämme, die vom Choleraimmunserum bis zum Endtiter agglutiniert wurden, während sie vom Normalserum nicht beeinflusst wurden. Durch mehrfaches Ueberimpfen ging die Agglutinabilität nicht verloren: der am längsten beobachtete Stamm behielt sie über 4 Monate lang.

Hier sei nun berichtet über ein Bakterium „S“, das aus dem Stuhle eines 23-jährigen Soldaten gezüchtet wurde. Der Mann hatte sich während des Krieges zunächst 1 Jahr auf dem östlichen Kriegsschauplatze befunden. Er hatte hier einmal ein paar Tage Durchfall, war aber im übrigen gesund geblieben. Cholera soll bei seinem Truppenteil nie vorgekommen sein. Dann war er nach einem mehrmonatigen Aufenthalt in Berlin 1 Jahr im Innern von Kleinasien gewesen, hatte auch hier einmal längere Zeit leichten Durchfall gehabt. Auch hier soll in seiner Umgebung Cholera nicht vorgekommen sein. Sein Stuhl wurde gelegentlich einer Durchuntersuchung seines Truppenteils, der übrigens mit dem oben erwähnten verseuchten Truppenkörper nicht in Berührung gekommen war, untersucht. Der Mann selbst fühlte sich nach wie vor vollkommen wohl. Er war während des Krieges wiederholt gegen Cholera geimpft worden.

Das gezüchtete Bakterium „S“ stellt ein großes, plumpe, bewegliches Stäbchen dar. Es wächst auf Dieudonné-Platten und besonders auf Alkaliagar in ziemlich üppigen Kolonien. Auf Drigalski wächst es blau, aber derb, auf Endo hellrot; Chinablaunährboden wird gelblich verfärbt. Es bläut Lackmusmolke und vergärt Traubenzucker. Mit agglutinierendem Choleraserum des Kaiserlichen Gesundheitsamtes und der Kaiser Wilhelms-Akademie gibt es sofort eine positive Probeagglutination, ebenso, aber schwächer, mit dem Serum des Instituts für Infektionskrankheiten, während die Kontrollen negativ bleiben.

Die große Agglutination fiel am 14. Mai 1917 mit der Reinkultur „S“ in 3. Generation in folgender Weise aus:

Stamm	Serum	Positive Agglutination bis
„S“ in 3. Generation	Choleraserum Kaiserl. Gesundheitsamt, bezogen Febr. 1917, Titer 1:10 090	1:12 800
„S“ in 3. Generation	Choleraserum Kaiser Wilhelms-Akademie, bezogen März 1916, Titer 1:10 000	1:1 600
„S“ in 3. Generation	Choleraserum Institut für Infektions- krankheiten, bezogen März 1916, Titer 1:5000	1:400
„S“ in 3. Generation	Paratyphus B-Serum Kaiser Wilhelms- Akademie, bezogen März 1916, Titer 1:3000	1:400

Mit anderem agglutinierenden Serum wurde keine Agglutination erzielt. Die Kontrollen fielen hier wie auch in den folgenden Versuchen stets negativ aus.

Am 18. Juni 1917 wurde derselbe Stamm „S“ in 10. Generation untersucht:

Stamm	Serum	Positive Agglutination bis
„S“ in 10. Generation	Choleraserum Kaiserl. Gesundheitsamt, wie oben	1:12 800
„S“ in 10. Generation	Choleraserum Institut für Infektions- krankheiten, wie oben	1:400
„S“ in 10. Generation	Paratyphus B-Serum Kaiser Wilhelms- Akademie, wie oben	1:400

Am gleichen Tage wurde das Blutserum des Mannes S. untersucht:

Stamm	Serum	Positive Agglutination bis
„S“ in 10. Generation	S.	200
Cholera-Laboratoriumstamm	S.	0
Typhus- „	S.	100
Paratyphus A- „	S.	50
Paratyphus B- „	S.	100

Am 17. Juli 1917 die 35. Generation des Stammes „S“ zur Agglutination an-  
gesetzt:

Stamm	Serum	Positive Agglutination bis
„S“ in 35. Generation	Choleraserum Kaiserl. Gesundheitsamt, wie oben	1:9 600
„S“ in 35. Generation	Choleraserum Kaiser Wilhelms-Akademie, bezogen Mai 1917, Titer 1:10 000	1:12 800
„S“ in 35. Generation	Choleraserum Institut für Infektions- krankheiten, wie oben	1:600

Am 27. Aug. ergab die Agglutination und die 75. Generation von „S“:

Stamm	Serum	Positive Agglutination bis
„S“ in 75. Generation	Choleraserum Kaiserl. Gesundheitsamt, wie oben	1:9 600
„S“ in 75. Generation	Choleraserum Kaiser Wilhelms-Akademie, bezogen Mai 1917, Titer 1:10 000	1:12 800
„S“ in 75. Generation	Choleraserum Institut für Infektions- krankheiten, wie oben	1:200

Das Serum eines Kaninchens, das vorher weder den Stamm „S“ noch Choleraerastämme agglutiniert hatte, agglutinierte nach Immunisierung mit Stamm „S“ diesen Stamm bis zur Verdünnung 1:12 800, dagegen die verschiedensten Choleraerastämme keine Spur.

Aus letzterer Untersuchung geht hervor, daß der Stamm „S“, wie dies ja auch nach den morphologischen Eigenschaften und dem kulturellen Verhalten ohne Zweifel feststand, sicher kein Choleraerastam ist. Daß er trotzdem von hochwertigen Seren in der Probeagglutination prompt und in der großen Agglutination teilweise bis zur Titergrenze und sogar darüber hinaus agglutiniert wird und diese Eigenschaft anscheinend weder im Laufe der Zeit noch in der Folge der Generationen einbüßt, ist sicher von großem praktischen und theoretischen Interesse

### Zusammenfassung.

Nach Genuß von grünem Salat, welcher in verseuchtem Wasser gewaschen war, erkrankten von einer Gruppe von etwa 100 Soldaten die Hälfte zunächst unter paratyphusähnlichen Erscheinungen.

In der Folge ergab sich, daß 76 Proz. der Erkrankten an Cholera, 44 Proz. an Typhus, Paratyphus A und B und 8 Proz. an Dysenterie erkrankt waren, so zwar daß 28 Proz. an Cholera und unmittelbar darauf an Typhus bzw. Paratyphus, 2 Proz. an Cholera und Dysenterie, 6 Proz. an Cholera, Paratyphus und Dysenterie erkrankt waren.

Aus dem in Frage kommenden Wasser wurden nur Choleravibrionen nachgewiesen; jedoch ist auch die Infektion mit den übrigen Erkrankungen mittels des gleichen Wassers sehr wahrscheinlich. Da demnach die Infektion mit den verschiedenen Krankheiten wahrscheinlich gemeinsam erfolgte, traten sie entsprechend ihrer verschiedenen Inkubationsdauer nacheinander auf, so daß die eine Erkrankung in die Rekonvaleszenz der vorhergegangenen fiel.

Diese Form der Komplikation der Cholera mit Typhus, Paratyphus A und B und Dysenterie täuschte in einer Reihe von Fällen einem langsamen Verlauf der Cholera mit spät einsetzenden ungünstigen Ausgängen vor; im übrigen verliefen die komplizierenden Erkrankungen im allgemeinen mild.

In Abwässern vermögen sich Choleravibrionen tagelang lebensfähig zu erhalten; sie vermögen darin mindestens mehrere 100 m Wegs zurückzulegen.

Das Peptonanreicherungsverfahren soll auch bei Cholerakrankheitsfällen nicht unterlassen werden. Andererseits darf aber auch im Gegensatz zu von verschiedenen Seiten gemachten Vorschlägen auf die Anlegung von Kulturplatten ohne Anreicherung nicht verzichtet werden.

Frische Cholerakulturen zeigen einen eigentümlichen Geruch, welcher mit Vorteil mit zur raschen Ermittlung positiver Fälle verwendet werden kann.

Die bakteriologischen Cholera, Typhus, Paratyphus A- und B- und Dysenteriediagnosen standen bei der vorliegenden Epidemie in guter Übereinstimmung mit den klinischen, in einem hohen Prozentsatz gelang der Nachweis der Erreger. Die angewandte bakteriologische Untersuchungsmethode arbeitet demnach mit einem hohen Grade von Zuverlässigkeit.

Eine zuverlässige Beurteilung der Ansteckungsgefahr bei Cholera- genesenden ist nur durch eine bakteriologische Untersuchung möglich. Eine 5-tägige Quarantäne ohne bakteriologische Untersuchung ist im allgemeinen jedenfalls viel zu kurz bemessen.

32 frisch gezüchtete Cholerastämme der Epidemie boten im wesentlichen dieselben morphologischen und biologischen Eigenschaften wie 20 ältere Cholerastämme der verschiedensten Herkunft. Im allgemeinen zeigten sie nur lebhafteres, üppigeres Wachstum, verflüssigten Gelatine energischer und wurden von hochwertigen agglutinierenden Seren bis in höheren Verdünnungen agglutiniert. Hämolyse ließen sich bei Prüfung mit Hammelblutkörperchen-Aufschwemmungen in keinem Falle nachweisen; auch in 5-tägigen Bouillon-Cholerakulturen waren Hämolyse nicht nachzuweisen.

Lackmusmolke läßt sich zur Choleradiagnose insofern mitverwenden als sie durch Alcaligenes-Stämme, welche unter Umständen den



Eindruck von Vibrionen machen können, im Gegensatz zur Cholera rasch und dauernd gebläut wird. Dagegen bewirken choleraähnliche Vibrionen nach vorübergehender Bläuung eine allmähliche Rötung und Entfärbung der Lackmusmolke wie Cholera selbst.

Wegen des Vorkommens von Bakterien, welche von hochwertigen agglutinierenden Choleraseren wie echte Choleravibrionen agglutiniert wurden, ist in jedem Falle auf den Nachweis der Vibrionennatur besonderer Wert zu legen.

#### Literatur.

- Aronson, Med. Klin. 1915. S. 1318.  
 Baerthlein, Ueber Blutveränderungen durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 201.)  
 — u. Grünbaum, Ueber Seuchenbekämpfung, insbesondere Cholerabekämpfung. (München. med. Wochenschr. 1916. S. 436.)  
 Bujwid u. Arzt, Ueber Cholera asiatica. (Wien. klin. Wochenschr. 1914. S. 1583.)  
 Canavan, Boston med. and surg. Journ. Vol. 169; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 61. 1914. S. 318.  
 v. Daranyi, Unzulänglichkeit der Beobachtungsdauer bei Cholera. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 47.)  
 Gaeltgens, Beitrag zur Frage der Differenzierung von choleraähnlichen und Choleravibrionen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 197.)  
 Gildemeister u. Baerthlein, Beitrag zur Cholerafrage. (München. med. Wochenschrift. 1915. S. 705.)  
 Hoppe-Seyler, Zur Kenntnis der Cholera und ihrer Verschleppung. (Ebenda. 1916. S. 542.)  
 Jastrowitz, Cholera und Paratyphus B. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 973.)  
 Jochmann, Lehrbuch der Infektionskrankheiten. 1914. S. 509.  
 Lehmann, E., Zur Kenntnis des Paratyphus A. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78.)  
 Löwenstein, Ueber das Vorkommen von Dysenteriebazillen in einer Pferdeschwemme. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. S. 998.)  
 Löwy, Bilden Choleravibrionen Hämattoxine? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. S. 319.)  
 van Loghem, Unterschied zwischen Hämolyse und Hämodigestion auf der Blutagarplatte. (Ebenda. Bd. 70. 1913. S. 70.)  
 Mancini, Wien. klin. Wochenschr. 1913. S. 751.  
 Messerschmidt, Das Vorkommen von mit Choleraserum paraggglutinierenden Bakterien. (München. med. Wochenschr. 1916. S. 810.)  
 Popoff-Tscherkasky, Quelques observations sur la morphologie et la biologie du V. cholerae etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. S. 382.)  
 Quadflieg, Ein Beitrag zur bakteriologischen Choleradiagnose. (Zeitschr. f. Med.-Beamte; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 65. 1917. S. 453.)  
 Ruß, Die Cholera am südlichen Kriegsschauplatz. (Das österr. Sanitätswes. Jahrg. 27. 1915; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 64. 1916. S. 258.)  
 Salus, Kurze Mitteilungen der Untersuchungsergebnisse bei Cholera etc. (Prag. med. Wochenschr. 1915; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63. 1915. S. 730.)  
 Schmitz, Die Leistungsfähigkeit der bakteriologischen Typhusdiagnose etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 231.)  
 Simond-Pasteur-Kiamit-Asseo, Bull. Soc. de pathol. exot. T. 7. 1914; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63. 1915. S. 71.  
 Sonne, Ueber die Bakteriologie der giftarmen Dysenteriebazillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. S. 408.)  
 Strisower, Meine Erfahrungen aus der Choleraepidemie in Serbien im Sommer 1913. (Wien. klin. Wochenschr. 1913. S. 2078.)  
 Verzár u. Weszerzky, Zur Stuhluntersuchung auf Typhus- und Cholerabazillen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 477.)  
 Walko, Ueber kombinierte Infektionen mit epidemischen Krankheiten. (Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 197 u. 246.)  
 Weißkopf u. Herschmann, Zur Epidemiologie der Cholera asiatica. (München. med. Wochenschr. 1915. S. 862.) (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis der Bakterien der „Faecalis-Gruppe“.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Res.-Spit. in Steyr Kommandant Oberstabsarzt Doz. Dr. A. Skutetzky, Laboratoriums-Verstand Oberarzt i. d. R. Dr. Erik Joh. Kraus) und aus dem Path.-anat. Institut der k. k. deutschen Universität in Prag (Vorstand Ober-sanitätsrat Prof. Dr. Anton Ghon).]

Von Oberarzt Dr. **Erik Joh. Kraus** und San.-Leut. Med. **E. Klasten**.

Im folgenden sei über einige bei infektiösen Darmprozessen aus den Faeces gezüchtete Stämme berichtet, die wegen ihrer nahen Verwandtschaft mit dem *Bacterium faecale alcaligenes* in die sogenannte Faecalis-Gruppe gerechnet werden müssen. Der Hauptrepräsentant dieser Gruppe ist der von Petruschky entdeckte und 1896 näher beschriebene *Bacillus faecalis alcaligenes*. Neben diesem gibt es, wie die einschlägige Literatur beweist, eine Reihe von Stämmen, die sich vom echten Faecalis nur dadurch unterscheiden, daß sie selbst von einem hochwertigen Faecalis-Immunserum gar nicht oder nur in ganz geringem Maße agglutiniert werden.

Wir verweisen hier vorerst auf eine der älteren Arbeiten, und zwar die von Klimenko, der auf Grund von Kreuzungsagglutinationsversuchen feststellen konnte, daß es viele Stämme gibt, die bei völliger biologischer und kultureller Uebereinstimmung mit dem *Bacterium faecale* weder vom Faecalis-Serum, noch von den homologen Immunseris anderer solcher Stämme agglutiniert werden. Allerdings zählt Klimenko, auf Grund von Agglutinationsergebnissen, in die Faecalis-Gruppe auch eine Reihe von Stämmen, die gewisse Zuckerarten (Glukose, Galaktose, Lävulose) und Glycerin unter Säurebildung zersetzen, Fähigkeiten, die das *Bacterium faecale alcaligenes*, wie schon der Name besagt, nicht besitzt.

Gaechgens fand durch Agglutinationsversuche, daß das *Bacterium faecale alcaligenes* keine einheitliche Bakterienart darstellt, sondern eine Gruppe bildet, ähnlich der des *Bacterium coli*.

Das erwähnte serologische Verhalten der verschiedenen Faecalis-Stämme konnte auch Baerthlein feststellen, wobei er von verschiedenen Gruppen spricht, die sich serologisch nicht beeinflussen lassen.

In neuerer Zeit unterscheiden Felsenreich und Trawinski, auf Grund der Beschaffenheit der Kolonien, 2 verschiedene Faecalis-Typen, wobei der auffälligste Unterschied in der Durchsichtigkeit und Granulierung der Kolonien gelegen ist, und zwar besitzt die 1. Gruppe ganz schwachhöckerige, sehr durchsichtige Kolonien mit gleichmäßiger, leicht matter Oberfläche und ziemlich dickem, mäßig gezacktem, wenig oder gar nicht gefaltetem Randsaum, während die Kolonien der 2. Gruppe glatt, glänzend und von herabgesetzter Durchsichtigkeit sind und einen gut entwickelten, mäßig stark gezackten, radiär gefalteten Randsaum besitzen. Nach diesen Autoren lassen sich die beschriebenen 2 Typen ineinander nicht überführen.

Das dürften unseres Wissens die wichtigsten Mitteilungen sein, auf die sich unsere, noch immer recht mangelhafte Kenntnis der Faecalis-Gruppe stützt. Wie wenig verbreitet die genaue Kenntnis des *Bacterium faecale* zu sein scheint, beweisen einige Arbeiten, die uns bei der Durchsicht der Literatur in die Hände gelangten. Bei Hauser und Springer vermag ein „*Bacterium faecale*“ Milch zur Gerinnung zu bringen, und Schraub und Kraus fanden im strömenden Blut und im Harn je 1 Stamm, den sie als Variation des *Bacterium*

faecale ansehen, und von denen einer Gelatine verflüssigte, auf Endo-Agar rot wuchs, auf Drigalski gar nicht anging, usf.

Bei der Einreihung von Bakterienarten in die Gattung *Faecalis* müssen die folgenden, zum größten Teil von Petruschky selber beschriebenen Eigenschaften streng berücksichtigt werden: lebhaftes Beweglichkeit, ein gewisser Kolonientypus, das Unvermögen, Zuckerarten und Alkohole unter Säurebildung zu zersetzen, Alkalibildung ohne vorangehende Säuerung, keine Milchgerinnung, keine Gelatineverflüssigung und fehlende Indolbildung.

Immerhin gibt es Stämme, die nicht nur serologisch (wie einige vorhin zitierte Autoren wiederholt fanden) vom *Faecalis* abweichen, sondern auch gewisse biologische und kulturelle Differenzen aufweisen, trotzdem aber als Repräsentanten untereinander nahe verwandter Arten zur Gattung *Faecalis* gerechnet werden müssen. Mit einigen derartigen Stämmen wollen wir uns im folgenden etwas ausführlicher beschäftigen, wobei wir nach Möglichkeit auch die Klinik unserer Fälle einer kurzen Mitteilung würdigen möchten.

Der 1. Fall behandelt einen 27-jährigen russischen Kriegsgefangenen, der in W. bei S. angeblich mit Schüttelfrost und Kopfschmerzen erkrankte und am 11. Jan. 1917 in das Reservespital in S. mit 36,8 Körpertemperatur, spärlichem Raeseln über den Lungen und etwas aufgetriebenem, leicht gespanntem Bauch eingeliefert wurde. Am 3. Tage seiner Einlieferung beginnt eine 10-tägige unregelmäßige Fieberperiode, die am 5. Tage 38,1° erreicht und am 23. d. M. wiederum abklingt. — Am 14. Jan., das ist 4 Wochen nach erfolgter Erkrankung, agglutinierte das Blut des Pat. Typhusbakterien bis 1:50 schwach, Paratyphusbakterien (A und B) stark in der Verdünnung 1:200. — Eine Stuhluntersuchung am 2. Febr. war negativ, eine am 15. Febr. positiv für *Bacterium paratyphi* A. Am 19. d. M. war der Widal schwach positiv für Typhus abdominalis bei 1:50, negativ für Paratyphus A und B. Am 21. Febr., also ca. 4 Wochen nach der Entfieberung, wurde aus dem Stuhl auf Drigalski-Agar ein gramnegatives, lebhaft bewegliches Stäbchen vom Aussehen des *Bacterium coli* reichlich und fast in Reinkultur gezüchtet. — 3 weitere Stuhluntersuchungen, sowie eine Harnuntersuchung waren negativ; eine Widal-Probe am 26. Febr. ergab den gleichen Befund wie die vorangegangene. Am 14. März wurde der Pat. geheilt entlassen.

Das erwähnte *Bacterium*, das wir als Stamm 1821 bezeichnen wollen, wächst am 1. Tag auf Drigalski blau und ziemlich durchscheinend und wird erst später mehr graublau und etwas trüber.

Auf Agarplatten erscheinen die Kolonien nach 24 Stunden rund, scharfrandig, grauweißlich, glänzend, etwas opak, mikroskopisch überall gleichmäßig feinst granuliert, von der Gestalt einer Kalotte, nach 48 Stunden zart irisierend, ein wenig abgeflacht, an der Oberfläche fein chagriniert. Nach 5 Tagen sind die Kolonien ziemlich opak und dort, wo sie ganz isoliert stehen, bis einige Millimeter breit. Im Zentrum erhebt sich aus einer minimalen Eindellung ein ganz niedriger Kegel; das Zentrum selber erscheint ziemlich dicht; in der Peripherie entsteht ein schmaler, etwas unregelmäßig zackig begrenzter, ganz leicht gefalteter Randsaum, der sich gegen die Kolonieplatte leicht wallartig absetzt und gegen den Nährboden schräg abfällt.

Traubenzucker wird von dem Stamm nicht vergoren.

Lackmusmolke erscheint nach 24 Stunden etwas getrübt und in der Farbe unverändert oder eine Spur gebläut; nach 48 Stunden ist dieselbe deutlich gebläut, um erst nach Ablauf von 3 Tagen einen tiefblauen Farbenton zu erreichen. Zugleich bildet sich nach wenigen Tagen eine ganz zarte Kahlhaut mit einem weißlichen Ring. Nach 4 Wochen erscheint die Lackmusmolke fast klar, rein blau, ohne Kahlhaut und mit geringem Satz.

Milch bleibt durch 4 Wochen unverändert, bei leicht alkalischer Reaktion.

Gelatine wird nach 4 Wochen nicht verflüssigt, bei uncharakteristischem Wachstum in der Stichkultur. In der Gelatineplattenkultur erscheinen die Kolonien an der Oberfläche rundlich, scharfrandig, etwas dunkel, später ausgesprochen bräunlich und deutlich granuliert. Gelegentlich bildet der Stamm in der Gelatinekultur eigenartige, atypische Kolonien mit ganz bizarren, stark verfilzten, manchmal geradezu wurstartigen Fortsätzen.

Indol bildet der Stamm weder in Pepton nach 4 Wochen, noch in Tryptophan nach 5 Tagen.

Auf Kartoffelscheiben ist selbst nach mehreren Tagen ein Wachstum kaum nachweisbar, vielmehr entsteht ein etwas glänzender Fleck, der erst bei geeigneter seitlicher Beleuchtung deutlicher sichtbar wird.

Bouillon erscheint nach 24 Stunden etwas getrübt, nach 3 Tagen trüb mit etwas flockigem, nach längerer Zeit wolkigem Satz, der sich nach Aufschütteln in der Flüssigkeit homogen verteilt.

Aus verschiedenen Zuckerarten und Alkoholen (und zwar Lävulose, Galaktose, Dextrose, Laktose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Arabinose, Xylose, Dextrin, Inulin, Mannit, Sorbit und Glycerin) spaltet der Stamm 1821 keine auf Lackmusagarplatten nachweisbare Säure ab, verhält sich demnach wie das *Bacterium faecale alcaligenes*.

Bariekow I und II, Loefflersche Grünlösung sowie Oldekop bleiben bei 10-tägiger Beobachtung unverändert.

3-proz. Lackmuskartoffelbrühe wird getrübt, erst in der Farbe kaum verändert, nach 3 Tagen beginnt jedoch deutliche Blaufärbung, nach 5 Tagen entsteht ein weißlicher Ring, aber keine Kahmhaut wie auf der Lackmusmolke.

Hämolyse ist nach 48 Stunden nicht vorhanden.

Der Stamm agglutinierte mit Typhusserum (Titer 1 : 4000) bis 1 : 400, mit Paratyphus A-Serum (Titer 1 : 10000) bis 1 : 1200, mit Paratyphus B-Serum (Titer 1 : 9000) bis 1 : 800, mit Gärtner-Serum (Titer 1 : 1000) bei 1 : 40 gar nicht. Mehrere Wochen später agglutinierte ein anderes Typhusserum (Titer 1 : 8000) und ein Paratyphus A-Serum (Titer 1 : 7000) den Stamm nur noch bis 1 : 500 schwach, ein Paratyphus B-Serum (Titer 1 : 1000) bis 1 : 100 mittelstark, ein Gärtner-Serum (Titer 1 : 3000) bis 1 : 50 schwach. — Ein von uns selber hergestelltes Kaninchenimmunsrum gegen *Bacterium faecale alcaligenes* mit dem Titer 1 : 10000 agglutinierte den Stamm schwach bis zur Verdünnung 1 : 320. — Vom Krankenserum wurde der Stamm seinerzeit — mehrere Wochen nach erfolgter Entfieberung — bis zur Verdünnung 1 : 400 schwach, aber ganz deutlich agglutiniert.

Für weiße Mäuse ist der Stamm nicht pathogen, da 0,2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur weder subkutan, noch intraperitoneal injiziert imstande waren, das Tier zu töten oder auch nur krank zu machen.

Der 2. Fall behandelte einen 16-jährigen Schlosserlehrling, der 14 Tage vor seiner Aufnahme ins städtische Krankenhaus in S. mit Kopfschmerzen, Mattigkeit und Diarrhöe erkrankt war. Bei seiner Aufnahme am 29. Jan. 1917 bot er das typische Bild eines Typhus abdominalis. Am 1. Febr. waren nach Anreicherung in Galle Typhusbazillen in dem durch Venaepunktion gewonnenen Blute nachweisbar. Am 10. Febr. war der Stuhl negativ, am 12. fand sich der hier zu beschreibende Stamm 2502. Am 24. war der Widal für Typhus abdominalis 1 : 800 stark positiv. 3 weitere Stuhlproben waren negativ, ein Widal am 5. April für Typhus abdominalis bei 1 : 3200 positiv, für Paratyphus A und B negativ, für Flexner und Y bis 1 : 100 deutlich positiv, für Shiga-Kruse negativ.

Auf der primären Drigalski-Platte gehörte ca.  $\frac{1}{4}$  sämtlicher Kolonien dem Stamm 2502 an,  $\frac{1}{4}$  war *Bacterium coli*, das übrige weiße, opake Kolonien.

Die Kolonien erscheinen auf Drigalski rund, graublau, wenig durchscheinend, glänzend, der Nährboden in der Umgebung deutlich gebläut.

Auf Agar bildet das lebhaft bewegliche, gramnegative Stäbchen graugelbliche, glänzende, ziemlich dichte Kolonien, die nach 24 Stunden kalottenförmige Gestalt zeigen und mikroskopisch feinst granuliert erscheinen; nach 3 Tagen erkennt man eine ganz niedrige, kegelförmige Erhebung im Zentrum, die sich aus der etwas eingedellten Platte erhebt. Nach 6 Tagen hat sich ein ganz flacher, sehr durchsichtiger Randsaum entwickelt, der sich stufenförmig gegen die zart irisierende Platte absetzt.

Traubenzucker wird nicht vergoren.

Lackmusmolke wird nach 24 Stunden leicht getrübt, in der Farbe nicht verändert; nach 48 Stunden schwach, nach 4 Tagen stark gebläut. Später tritt eine zarte, blauweißliche Kahmhaut mit einem weißlichen Ring und spärlichem Bodensatz auf. Nach 3 Wochen erscheint die Lackmusmolke wenig trüb, ohne Kahmhaut, tiefblau.

Milch wird innerhalb von 4 Wochen nicht zur Gerinnung gebracht, erscheint etwas schmutzig-graugelblich verfärbt und zeigt alkalische Reaktion.

Bouillon wird rasch getrübt und weist einen feinen, wolkigen Satz auf.

Gelatine wird nach 4 Wochen nicht verflüssigt; das Wachstum im Stichkanal erscheint uncharakteristisch.

Indol wird weder nach 4 Wochen in Pepton, noch nach 5 Tagen in Tryptophan gebildet.

Auf Kartoffelscheiben wächst der Stamm nach mehreren Tagen sehr kümmerlich als matt glänzender Fleck.

Sämtliche beim Fall I genannten Zuckerarten und Alkohole läßt der Stamm 2502, gleich seinem Vorgänger, unverändert, ebenso Barsiekow I und II, sowie Löfflers Grünlösung.

Oldekop wird nach vielen Tagen etwas blässer als die Kontrolle.

Lackmuskartoffelbrühe beginnt erst am 3. Tage sich schwach zu bläuen, am 4. Tage ist sie deutlich blau und zeigt einen weißlichen Rand, jedoch keine Kahmhaut.

Gelatineplattenkulturen zeigen runde, grob granulierte bis feinhöckerige, dunkle Kolonien, oft mit einfacher Ringbildung. Neben dieser Form von Kolonien kommen aber auch ganz bizarre Formen vor mit wurst- und geldrollenartigen Fortsätzen und Auswüchsen, die durch Lostrennung zu Tochterkolonien in der Umgebung Anlaß geben und dadurch oft traubenförmige Gebilde entstehen lassen.

Hämolyse zeigt der Stamm nicht, ebenso keine Pathogenität für weiße Mäuse und für Meerschweinchen, denn weder 0,2 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur (subkutan und intraperitoneal injiziert) konnten eine Maus, noch 1 ccm derselben ein Meerschweinchen töten oder krank machen.

Mit Typhusserum agglutinierte der Stamm am 5. April bis 1:400 ziemlich stark, ebenso mit Paratyphus B und Gärtner-Serum. Die Agglutination mit Paratyphus A-Serum unterblieb durch ein Versehen. 17 Tage später wurde er von dem gleichen Typhusserum und Paratyphus B-Serum ungefähr gleich hoch wie das erste Mal, dagegen vom selben Gärtner-Serum bis 1:100 schwach agglutiniert. Paratyphus A-Serum agglutinierte den Stamm noch in der Verdünnung 1:1000. Der Titer dieser Sera war der gleiche wie im Falle I. — Am 10. Juni wurde der Stamm ein drittes Mal, und zwar mit einer anderen Serumreihe, agglutiniert, und dabei zeigte es sich, daß die Agglutinationsgrenze wesentlich heruntergegangen war. Typhusserum agglutinierte den Stamm nur noch bis 1:100 schwach, Paratyphus A- und B-Serum bis 1:800 schwach, Gärtner-Serum überhaupt nicht. — Ein *Faecalis alcaligenes*-Serum mit dem Titer 1:8000 agglutinierte den Stamm in der Verdünnung 1:50 gar nicht. Vom Patientenserum wurde der Stamm 2502 bis zur Verdünnung 1:200 deutlich agglutiniert.

Der 3. hierhergehörige Stamm rührt von einem 37-jährigen rumänischen Kriegsgefangenen her, der einige Tage vor seiner am 12. April d. J. erfolgten Aufnahme ins Reservespital in S. erkrankt war. Der stark unterernährte Mann bot das Bild eines fieberhaften Darmkatarrhs neben einer ziemlich ausgebreiteten Bronchitis. Er fieberte im Spital 9 Tage hindurch, und zwar stieg seine Temperatur am 2. Tage seines Spitalaufenthaltes auf 39,2°, war innerhalb 1 Woche auf 37,5 gesunken, um am Abend desselben Tages auf 40,2 emporzuschnellen. Am nächsten Tage erfolgte kritisch die Entfieberung. — In einer am 13. April entnommenen Stuhlprobe fand sich der zu beschreibende Stamm 2789. Eine Stuhlprobe am 19. war negativ, ebenso eine Blutgallekultur und eine Widal-Probe 3 Tage vorher. Am 22. April war der Widal in der Verdünnung 1:50 deutlich positiv für Typhus abdominalis, aber bereits 2 Wochen später erwies er sich in der gleichen Verdünnung als negativ.

Die primäre Drigalski-Platte war mäßig reichlich bewachsen, vorwiegend rot, bloß am Rande fanden sich mehrere runde, graublaue Kolonien eines lebhaft beweglichen, gramnegativen Stäbchens.

Auf Agar erscheinen die scharfrandigen, grauweißlichen, im durchfallenden Licht ein wenig irisierenden Kolonien glatt, recht opak und mäßig glänzend. Die Kolonien sind nach 24 Stunden kalottenförmig, mikroskopisch deutlich granuliert, später tritt ein ganz schmaler Randsaum auf, der sich stufenförmig gegen die Kuppe absetzt; die Kolonie sinkt nach 3 Tagen eine Spur dellenartig ein und erhebt sich nur im Zentrum zu einer kleinen, rundlichen Kuppe.

In Gelatine zeigt der Stamm ähnliche Kolonien wie der Stamm 2502. Traubenzuckeragar wird nicht vergoren. Lackmusmolke wird bereits nach 24 Stunden gebläut und getrübt, eine Kahmhaut wurde nicht beobachtet. 3-proz. Lackmuskartoffelbrühe wurde erst nach 4 Tagen deutlich gebläut, zum Unterschied vom *Bacterium faecale*, das dieselbe schon nach 24 Stunden stark blau färbt.

Bezüglich seines Verhaltens in Milch und der Indolbildung besteht kein Unterschied gegen den Stamm 1821. — Im Gelatinestich wächst der Stamm anfangs ganz uncharakteristisch und zeigt erst nach einigen Tagen im oberen Teil des Stichkanals farnkrautartige, radiär ausstrahlende Fortsätze. — Verflüssigung findet nicht statt. Bouillon wird diffus getrübt und zeigt einen lockeren, flockigen Satz. Auf Kartoffeln sehr kümmerliches Wachstum. Gegenüber den bereits genannten Zuckerarten und Alkoholen verhält er sich wie seine beiden Vorgänger. Das gleiche Verhalten zeigt er in Barsiekow, Oldekop und Loeffler. Hämolytische Eigenschaften besitzt er nicht.

Für weiße Mäuse ist der Stamm bei intraperitonealer Injektion von 0,3 cem einer 24-stündigen Bouillonkultur nicht pathogen.

Vom Krankenserum wurde er 2mal schwach agglutiniert, und zwar das 1. Mal in der Verdünnung 1:40, das andere Mal (11 Tage später) in der Verdünnung 1:20; 12 Tage später gar nicht mehr. Der Stamm wurde ferner 4mal mit Typhus- und Paratyphusserum zur Agglutination angesetzt, und hierbei zeigte es sich, daß seine Agglutinabilität innerhalb von 3 Wochen deutlich zunahm, und zwar von Typhus 1:20 negativ auf 1:180 schwach positiv und von Paratyphus A 1:20 schwach positiv auf 1:160 und von Paratyphus B 1:20 negativ auf 1:80 positiv. — 5 Wochen später fiel die Agglutination des Stammes mit einer anderen Serumreihe durchwegs negativ aus. — Ein hochwertiges Faecalis alcaligenes-Serum agglutinierte den Stamm überhaupt nicht.

Der Uebersicht halber lassen wir eine kurze Tabelle mit den wichtigsten biologischen und kulturellen Eigenschaften unserer 3 Stämme folgen:

Stamm	1821	2502	2789
Gram	—	—	—
Beweglichkeit	lebhaft mit polaren Geißeln	lebhaft mit peritrichen Geißeln	lebhaft
Drigalski	blaugrau, etwas durchscheinend	blaugrau, ziemlich dicht	blaugrau, dicht
Traubenzucker	kein Gas	kein Gas	kein Gas
Lackmuamolke	blau, mit zarter Kahmhaut	blau, mit Kahmhaut	blau, ohne Kahmhaut
Milch	unverändert, Reaktion leicht alkalisch	leicht schmutzig verfärbt, Reakt. alkal.	unverändert, Reaktion leicht alkalisch
Gelatine	keine Verflüssigung	keine Verflüssigung	keine Verflüssigung
Indol	—	—	—
Kartoffel	äußerst kümmerlich	sehr kümmerlich	sehr kümmerlich
Dextrose	—	—	—
Lävulose	—	—	—
Galaktose	—	—	—
Maltose	—	—	—
Saccharose	—	—	—
Raffinose	—	—	—
Arabinose	—	—	—
Xylose	—	—	—
Dextrin	—	—	—
Inulin	—	—	—
Mannit	—	—	—
Sorbit	—	—	—
Glyzerin	—	—	—
Barsiekow I u. II	—	—	—
Agglutination mit Krankenserum	1:400 +	1:200 +	1:40 +
Agglutination mit Faecalsserum	1:320 +	1:20 +	1:20 +
Tierpathogenität für weiße Mäuse	—	—	—

Wenn wir die hier beschriebenen Stämme mit dem typischen *Bacterium faecale alcaligenes* vergleichen, so ergibt sich ohne Schwierigkeit eine Reihe von Artdifferenzen, welche unter Umständen die Frage berechtigt erscheinen lassen, ob diese Stämme überhaupt zur Gattung *Faecalis* gerechnet werden dürfen. In erster Linie ist es der Kolonientypus, der für jede Bakterienart mehr oder minder spezifisch ist und unbedingt berücksichtigt werden muß, und der in unseren Fällen tatsächlich den gewichtigsten Unterschied gegenüber dem echten *Bacterium faecale*, und zwar vorwiegend, was die Durchsichtigkeit der

Kolonien anbelangt, bedingt. Wohl beschreibt Felsenreich und Trawinski einen Faecalis-Typus (Typus II), dessen Kolonien gleichfalls eine herabgesetzte Durchsichtigkeit besitzen und noch einige andere Merkmale mit den Kolonien unserer Stämme gemeinsam haben, doch erscheint es uns zweifelhaft, ob die genannten Autoren, die den Begriff des *Bacterium faecale* unserer Ansicht nach etwas zu weit fassen, bei der Aufstellung des Typus II nicht auch Stämme unserer Art in Händen hatten. — Andererseits beschreibt Baerthlein 2 verschiedene Kolonientypen des *Bacterium faecale*, die er durch Mutation erhalten hat, und von denen der eine trübe, undurchsichtige, stark irisierende Kolonien bildete, ähnlich den Kolonien der von uns beschriebenen Stämme. — Namentlich die von letztgenanntem Autor beobachtete Tatsache, daß ein typischer Faecalis durch Mutation neben hellen, durchsichtigen Kolonien auch opake Kolonien zu produzieren vermag, erscheint für die Frage der Zugehörigkeit unserer Stämme von großer Wichtigkeit. Es zeigen demnach unsere Stämme Wachstumseigenschaften, wie sie auch das echte *Bact. faecale alcaligenes* unter bestimmten Lebensbedingungen (bei der Mutation) zu äußern imstande ist. Diese Tatsache läßt es nur berechtigt erscheinen, Stämme unserer Art mit dem typischen *Bact. faecale alcaligenes* in eine Gattung einzureihen.

Als weitere Artunterschiede müssen wir noch einige andere Eigenschaften unserer Stämme auffassen. So das Verhalten in Milch, die nur schwach alkalisiert und gar nicht oder kaum aufgehellt wird. Die Lackmusmolke wird zwar intensiv gebläut, aber nicht in so kurzer Zeit, wie dies das echte *Bact. faecale alcaligenes* imstande ist. — Ein wichtigerer Unterschied liegt in dem Unvermögen, auf Kartoffelscheiben ein auch nur halbwegs üppiges Wachstum zu produzieren, geschweige denn, die für *Bact. faecale* so typische Braunfärbung zu erzeugen. — Endlich zeigt sich kulturell auch ein Unterschied im Verhalten unserer Stämme in der von uns für gewisse Zwecke bestimmten, nach eigener Vorschrift hergestellten 3-proz. Lackmuskartoffelbrühe, auf der keine Kahmhaut gebildet wird und die Blaufärbung viel später und in geringerem Maße erfolgt als beim echten *Bact. faecale*, wie überhaupt die Alkalibildung auf einer Reihe von Nährböden etwas geringer ist als beim *Bact. faecale*. — Es wurde auch die Begeißelung unserer Stämme untersucht und hierbei festgestellt, daß der Stamm 1821 endständige Geißeln besitzt, während der Stamm 2502 peritriche aufweist; beim Stamm 2789 gelang die Darstellung der Geißeln nicht, was bekanntlich trotz bester Technik nicht selten vorkommt. — Das *Bact. faecale*, dessen Begeißelung Petruschky selber als peritrich bezeichnet hat, besitzt, wie neuere Untersuchungen (Berghaus, Kühnemann) gezeigt haben, ausschließlich polare Geißeln.

Was den Unterschied der Stämme untereinander anbelangt, so ist dieser sehr geringfügig und besteht vorwiegend in der Beschaffenheit der Kolonien, der Wachstumsintensität und im serologischen Verhalten, abgesehen vom verschiedenen Geißeltypus bei den Stämmen 1821 und 2502. Der Stamm 1821 wächst viel weniger üppig, neigt geradezu zur Verkümmern, seine Kolonien sind durchsichtiger und an der Oberfläche fein chagriniert. Stamm 2502 wächst üppiger, seine Kolonien sind mehr gelblich, wesentlich dichter und weniger irisierend, in der Wuchsform nur durch den ganz flachen, hellen Randsaum von diesem verschieden. Der Stamm 2789 wächst am üppigsten, seine Kolonien

sind am meisten opak, seine Kolonienform weicht, wie in der Beschreibung bereits dargetan wurde, von den zwei erstgenannten ein wenig ab. — Serologisch ergibt sich unter anderem insofern ein Unterschied, als nur der Stamm 1821 von einem hochwertigen Faecalis-Serum agglutiniert wird, und zwar bis zur Verdünnung 1:320, während die beiden anderen überhaupt nicht beeinflußt werden. Auf die Agglutination mit dem Krankenserum und agglutinierenden Typhus- und Paratyphusserum kommen wir später noch zurück.

Auf Grund dieser Darlegungen halten wir uns berechtigt, die hier beschriebenen Stämme als verschiedene Varianten einer dem echten *Bact. faecale alcaligenes* nahe verwandten Art anzusehen. Wenn wir die Erfahrungen anderer Autoren über das serologische Verhalten verschiedener Faecalis-Stämme in Erwägung ziehen, demzufolge nur ein Teil dieser Stämme vom Faecalis-Immunserum beeinflußt wird, und uns andererseits unsere Befunde, sowie die Einteilung der Faecalis-Stämme von Felsenreich und Trawinski in 2 verschiedene Gruppen, von denen die eine unseren Stämmen bezüglich des Kolonientypus ähnlich zu sein scheint, vor Augen halten, dann glauben wir mit Recht, eine Gattung *Alcaligenes* aufstellen zu dürfen, zu der als wichtigste Art der „*Bacillus faecalis alcaligenes* von Petruschky“ zu rechnen ist, ferner als nächstverwandte, aber selbständige Art jene Stämme, die sich von diesem biologisch und kulturell gar nicht, jedoch serologisch unterscheiden, und als 3. Art Stämme, wie die hier beschriebenen, die sich bezüglich des Kolonientypus (dichte, opake Kolonien), durch ihr kümmerliches Wachstum auf Kartoffeln und geringere Alkalibildung vom echten *Bact. faecale* unterscheiden. Hierbei schließen wir jedoch die Existenz noch anderer Arten und Varianten in der *Alcaligenes*-Gruppe ganz und gar nicht aus, zumal wir selber einen Stamm besitzen, der dem Stamm 1821 ähnliche Kolonien bildet, sich sonst jedoch vollkommen wie ein echtes *Bact. faecale* verhält, also, zum Unterschied von unseren Stämmen, auch auf Kartoffeln üppig und braun wächst und vom Faecalis-Immunserum bis zur Titergrenze agglutiniert wird. Möglicherweise handelt es sich bei diesem Stamm um einen Vertreter des Faecalis-Typus II nach Felsenreich und Trawinski. — Wir verweisen auf die von Baerthlein festgestellte Tatsache, daß das *Bact. faecale alcaligenes* durch Mutation neben hellen, zarten, durchsichtigen auch trübe, undurchsichtige, stark irisierende Kolonien zu bilden imstande ist, eine Erscheinung, die auch wir bestätigen können. — In der Existenz eines derartigen Kolonientypus beim echten *Bact. faecale* erblicken wir, wie bereits erwähnt, mit einem Beweis der Zugehörigkeit unserer Stämme zu dieser Gattung.

Was die in der Literatur öfter genannte Tatsache anbelangt, daß „Faecalis-Stämme“ von Faecalis-Serum nicht beeinflußt werden, bzw. sich bloß durch ihr serologisches Verhalten vom echten *Bact. faecale* unterscheiden, so sei darauf hingewiesen, daß die zahlreichen Spielarten der Paratyphusgruppe zum Teil auch nur auf serologischem Wege voneinander unterschieden werden können.

Im folgenden wollen wir ein Bakterium beschreiben, das ebenfalls ein starker Alkalibildner ist, dennoch aber die Fähigkeit besitzt, gewisse Zuckerarten unter Säurebildung, wenngleich nur vorübergehend, zu zersetzen. Da das Bakterium zur *Alcaligenes*-Gruppe in naher Beziehung steht, sei auf diesen Fall etwas näher eingegangen.



Der Krankengeschichte, die uns in freundlicher Weise von der Chirurgischen Klinik Prof. Schloffer zur Verfügung gestellt wurde, entnehmen wir: Die 53-jährige Patientin R. gibt an, am 10. Juni l. J. plötzlich mit starken Magenschmerzen erkrankt zu sein. Am Abend Erbrechen grüner Flüssigkeit, Stuhl normal. Früher stets gesund gewesen. Status praesens: Patientin blaß, mager, Temperatur 37,4. Abdomen leicht vorgetrieben, namentlich im Epigastrium stark gespannt; Gallenblasengegend schmerzhaft. — Am 11. Juni Cholecystektomie, am 18. Heilung per primam intentionem.

Die in unserem Institut vorgenommene Untersuchung der exstirpierten Gallenblase ergab folgendes: In der Gallenblase 6 überhanfkorngroße Cholesterin-Kalkkonkremente. Die Schleimhaut gallig imbibiert, die Wand stark verdickt. — Histologisch erweist sich die Mucosa, Submucosa und Muscularis atrophisch, mit Rundzelleninfiltraten durchsetzt; die Submucosa ödematös. Die Diagnose lautet: Cholecystitis chronica und Cholelithiasis.

Die bakteriologische Untersuchung ergab direkt und nach Anreicherung ausschließlich und reichlich ein stark bewegliches, gramnegatives Stäbchen, das nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° auf Drigalski blaue, glänzende, recht üppig wachsende, im Zentrum weißliche, scharfrandige Kolonien in der Größe von Coli-Kolonien bildete, die nach mehreren Tagen an Dichte zunahmen und dadurch von ihrer ursprünglichen Transparenz wesentlich einbüßten. — Auf Agar erscheinen die 24-stündigen Kolonien rund, scharfrandig, glänzend, grauweißlich, dicht, im durchfallenden Lichte leicht irisierend und bei schwacher Vergrößerung feinst granuliert mit einer ganz zart angedeuteten, radiären Zeichnung. Nach einigen Tagen entsteht zentral eine ziemlich dichte, weißliche Kuppe, von einem flachen Wall umgeben, und in der Peripherie ein schmaler, feingelappter Randsaum, der sich zentripetal ebenfalls zu einem flachen Wall erhebt.

Aus Traubenzucker wird kein Gas gebildet. Lackmusmolke wird nach 24 Stunden dunkelblau und zeigt eine weiße Kahmhaut. Nach ca. 8–10 Tagen erfolgt deutliche Aufhellung der getrübbten Lackmusmolke, die nach 4 Wochen blau, fast klar und mit einem homogenen Satz erscheint. Milch wird nach 4 Wochen nicht koaguliert und weist leicht alkalische Reaktion auf. Gelatine wird in der gleichen Zeit nicht verflüssigt. Indol ist weder in Pepton nach 4 Wochen, noch in Tryptophan nach 6 Tagen mit dem Ehrlichschen Reagens nachweisbar. In Bouillon erzeugt das Bakterium starke Trübung, reichlich Bodensatz und eine weiße Kahmhaut. Auf Kartoffelscheiben wächst es als schmutzig-weißer, ziemlich üppiger, mattglänzender Rasen.

Ein eigenartiges Verhalten zeigt der Stamm den verschiedenen Zuckerarten gegenüber. Während er nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° aus 12 verschiedenen Zuckerarten und Alkoholen auf den mit Lackmus versetzten Platten keine Säurebildung nachweisen läßt, bewirkt er bei Zimmertemperatur, also bei langsamerem Wachstum, auf Lävulose, Galaktose, Dextrose, Laktose, Raffinose und Inulin in der gleichen Zeit eine deutliche, auf Maltose ganz zarte Rötung, die jedoch bei weiterer 24-stündiger Bebrütung in 37° wiederum verschwindet. Dieses speziell auf Drigalski näher studierte Verhalten des Stammes ergab nun folgenden ganz interessanten Befund: Nicht nur bei Zimmertemperatur, sondern auch im Brutschrank erfolgt eine Säuerung des milchzuckerhaltigen Nährbodens, jedoch in letzterem früher und nur rasch vorübergehend, während bei Zimmertemperatur die Rötung später erfolgt, dafür aber viel länger anhält. Während bei Zimmertemperatur gewachsene Platten noch nach 36 Stunden teilweise gerötet erscheinen können, werden diese bei 37° meist schon nach 18 bis 20 Stunden deutlich gebläut. Ueberführt man nun nach ca 7 Stun-

den eine teilweise bereits gerötete Drigalski-Platte aus der Bruttemperatur in die Zimmertemperatur und läßt sie daselbst bis zur vollständigen Rötung und bringt sie dann wieder zurück in den Brutschrank, so gelingt es (unter Umständen erst nach wiederholter Ueberführung in Zimmertemperatur), die Platte rot zu erhalten, welche Reaktion der Nährboden anscheinend nicht mehr verliert. Mit anderen Worten: Bei saurer Reaktion älter gewordene Kolonien verlieren die Fähigkeit, bei weiterer Bebrütung Alkali in erkennbarer Menge zu produzieren, eine Eigenschaft, die ihnen namentlich bei Bruttemperatur in hohem Grade zukommt. Allem Anscheine nach bildet das Bakterium bei niedriger Temperatur aus Milchzucker viel mehr Säure als bei 37°, wodurch, besonders infolge des bei Zimmertemperatur verlangsamten Wachstums, eine derart anhaltende Säuerung des Nährbodens auftritt, daß die später einsetzende Alkalibildung einen Umschwung der Reaktion herbeizuführen nicht mehr imstande ist. Barsiekow I und II blieben durch 3 Wochen, Oldekop durch 8 Tage unverändert. — Hämolyse war nicht nachweisbar.

Die Agglutination des Stammes mit Typhus-, Paratyphus A und B-Serum sowie mit Gärtner-Serum in der Verdünnung 1:50 blieb negativ. Von dem von uns hergestellten Faecalis alcaligenes-Serum vom Kaninchen mit dem Titer 1:10000 wurde der Stamm nur in der Verdünnung 1:25 deutlich agglutiniert. Eine junge, graue Maus, mit 0.5 ccm 24-stündiger Bouillonkultur intraperitoneal injiziert, blieb am Leben, ohne erkennbare Erkrankung.

Es wäre nur noch bezüglich der Beweglichkeit des morphologisch vom *Bacterium coli* nicht zu unterscheidenden Stäbchens zu erwähnen, daß diese nach einigem Ueberimpfen rapid abnahm und durch kein Mittel zur früheren Stärke gebracht werden konnte. Trotz verschiedener Nährbödenpassagen blieb der größte Teil der Bakterien fast unbeweglich (bei sehr lebhafter Molekularbewegung), während nur einzelne Individuen deutliche Beweglichkeit, namentlich auf Blutagar, erkennen ließen. In der Erwartung, durch Mutation wiederum einen gut beweglichen Stamm zu erhalten, wurde nach der Vorschrift von Baerthlein eine mit dem Stamm R beimpfte Bouillonkultur 8 Tage bei 37° bebrütet und davon je eine Oese auf Agar und Drigalski gestrichen. Es entwickelten sich auf diesen Platten 2 verschieden aussehende Kolonientypen, und zwar auf Drigalski gleichmäßig graublaue Kolonien und Kolonien mit einem dichten, weißen Zentrum. Beide Typen bestehen aus unbeweglichen oder fast unbeweglichen Stäbchen; der erstgenannte Typus aus auffallend kurzen, geradezu kokkenähnlichen, der zweite Typus aus gleichfalls kurzen, aber im Vergleich zu jenem wesentlich längeren Stäbchen. Auf Agarplatten resultieren graue, etwas durchscheinende und grauweiße, dichte Kolonien von gleicher Größe. Von beiden Kolonientypen angelegte Bouillonkulturen unterscheiden sich dadurch, daß der helle Typus bereits nach 24 Stunden eine dicke Kahlhaut bildete, während diese bei dem anderen erst am 3. Tage auftrat. In ihrem Verhalten den verschiedenen Zuckerarten und Alkoholen gegenüber war zwischen den 2 Mutationsformen kein Unterschied festzustellen.

Von den ersten 3 Stämmen unterscheidet sich der Stamm R, abgesehen vom Kolonientypus, von dem viel üppigeren Wachstum, der stärkeren Alkalibildung (namentlich in Lackmusmolke) und der schmutziggelblichweißen Rasenbildung auf Kartoffelscheiben, hauptsächlich durch das oben beschriebene Verhalten gewissen Zuckerarten gegenüber. Was

den Kolonientypus anbelangt, so sei darauf hingewiesen, daß die eine Mutationsform des Stammes R (die hellere) dem Stamm 2789 sehr ähnlich erscheint, die andere allerdings durch das auffallend dichte, weiße Zentrum von diesem wesentlich abweicht.

Der Stamm dürfte ein Zwischenglied zwischen der Gattung *Alcaligenes* und der Gattung *Coli* darstellen, wobei er jedoch dem *Bact. faecale* viel näher steht, als dem *Bact. coli*.

Zum Schluß möchten wir ganz kurz über ein Bakterium berichten, das zwar nicht in die *Faecalis*-Gruppe hineingehört, aber einerseits aus rein pathologischen, andererseits aus differentialdiagnostischen Gründen ein gewisses Interesse für sich beansprucht. Es handelt sich dabei um ein gramnegatives, gut bewegliches Stäbchen, welches wir 2mal aus den Faeces eines typhusverdächtigen Kranken in großer Menge und in Reinkultur züchten konnten. Ein 29-jähr. Kanonier erkrankte am 13. Mai 1917 mit Kopfschmerzen und Stuhlverhaltung. Am 21. kam er in das Reservespital in L. mit 37,6 Temperatur, stark belegter trockener Zunge, aufgetriebenem, druckschmerzhaftem Abdomen. Die Milz war nicht vergrößert. Am nächsten Tage war er bereits fieberlos und bot angeblich nur noch die Symptome einer Bronchitis. Wie der recht kurzen Krankengeschichte zu entnehmen war, hatte Pat. während seines ganzen Aufenthaltes regelmäßigen, geformten Stuhl. Am 23. Mai, also unmittelbar nach seiner Spitalsaufnahme, wurde aus seinen Dejekten auf der Drigalski-Platte sehr reichlich und fast in Reinkultur der als „Byk“ bezeichnete Stamm gezüchtet. 1 Monat später konnten wir bei dem Kranken denselben Befund erheben. Vorher und auch noch später vorgenommene Stuhl- und Harnuntersuchungen waren für pathogene Darmbakterien stets negativ. Der Widal war am 7. Juni für Typhus abdominalis positiv bis 1:200, desgleichen am 26. Juni und am 4. Aug.: die letzten 2mal auch für Paratyphus A und Dysenterie Y bis 1:50. Das Blut des Pat. wurde 3mal nach Anreicherung in Galle untersucht, aber stets mit negativem Ergebnis.

Die primäre Drigalski-Platte war von unserem Bakterium schon nach 24 Stunden intensiv gebläut, die Kolonien selber blau, durchscheinend, ähnlich dem *Bacterium faecale*. Da das gut bewegliche Stäbchen Traubenzucker nicht vergaste, auf Mannit, Maltose und Saccharose nach 24 Stunden blau gewachsen war, glaubten wir, ein *Bacterium faecale* vor uns zu haben. Erst das Verhalten des Stammes auf Lackmusmolke zeigte, daß wir es mit keinem *Bact. faecale* zu tun hatten. Nach 24 Stunden erschien diese zart gerötet, nach 48 neutral oder eine Spur gebläut und erst nach 3 Tagen rein blau, mit einer zarten Kahmhaut. — Milch wird nach 14 Tagen nicht koaguliert.

Im Gelatinestich wächst er uncharakteristisch, ohne Verflüssigung. Bouillon wird diffus getrübt und zeigt einen ziemlich reichlichen Bodensatz. Indol wird in Tryptophan nach 5 Tagen reichlich, in Pepton nach 10 Tagen in geringer Menge gebildet. Auf Kartoffelscheiben wächst er, ähnlich wie das *Bact. faecale*, üppig, erst graugelblich, später bräunlichgelb, mattglänzend. Auf Agarplatten ist kein wesentlicher Unterschied gegenüber dem *Bacterium faecale* festzustellen; die Kolonien erscheinen im Zentrum höchstens eine Spur dichter. Von den im vorigen erwähnten Zuckerarten und Alkoholen werden folgende unter Säurebildung zersetzt: die Monosaccharide Dextrose, Lävulose und Galaktose und von den

Alkoholischen Mannit (dieser allerdings erst nach mehreren Ueberimpfungen und in kaum nachweisbarem Maße) und Glycerin. Während Mannit anfangs gar nicht zersetzt wurde, vermochte der Stamm später, anscheinend durch Anpassung an den Nährboden, den genannten Alkohol in ganz geringem Maße anzugreifen, was sich in einer geringfügigen Rötung des mit Lackmus gefärbten Nährbodens, und zwar lediglich unter der dicht ausgestrichenen Bakterienmasse, äußerte. Bei isolierten Kolonien war eine Rötung des Nährbodens überhaupt nicht nachweisbar. Hämolyse war negativ.

Vom Krankenserum wurde der Stamm 8 Wochen nach Beginn der Erkrankung selbst in der Verdünnung 1:25 nicht agglutiniert, ebenso wenig von Typhus-, Paratyphus- und Gärtner-Serum; dagegen agglutinierte ihn ein Faecalis-Serum mit dem Titer 1:8000 ziemlich stark bis zur Verdünnung 1:100. Für weiße Mäuse war der Stamm Byk pathogen, indem 0,3 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur, intraperitoneal injiziert, das Tier nach 30 Stunden töteten. Aus dem Herzblut des Tieres konnte das Bakterium reichlich und in Reinkultur isoliert werden.

Auch dieser Stamm steht seinem Wesen nach zwischen der Faecalis-Gruppe und der Coli-Gruppe, gleichfalls der ersten näher. Mit dem *Bacterium coli* gemeinsam hat er die Fähigkeit, gewisse Zuckerarten zu zersetzen, Indol zu bilden und Lackmusmolke, wenn auch nur vorübergehend, zu röten.

Die nächste Frage, mit der wir uns hier beschäftigen wollen, ist die nach der pathogenen Bedeutung der ersten 3, der Gattung *Alcaligenes* angehörigen Stämme für den Menschen. Die Ansichten der Autoren über die Pathogenität des *Bact. faecale* gehen bekanntlich ziemlich auseinander; die Mehrzahl ist jedoch geneigt, dem *Bact. faecale* alcaligenes menschenpathogene Bedeutung abzusprechen.

Petruschky selbst wollte diese Frage mit Sicherheit nicht entscheiden, Berg-haus hält ihn für einen Saprophyten, dagegen beschreiben Trincas und Olla eine Vergiftung von 5 Personen durch den Genuß von Käse, aus dem die Autoren das *Bacterium faecale* züchten konnten. Hamm fand im Exsudat einer puerperalen Peritonitis und Pyelonephritis das *Bact. faecale* als den einzigen Mikroorganismus und hält ihn für den Erreger der betreffenden Infektion; dagegen sieht Ridder in dem gleichen Bakterium, das er aus dem strömenden Blute eines an Fleischvergiftung erkrankten Mannes gezüchtet hat, lediglich ein Begleitbakterium. Fürth hält ein *Bacterium* aus der Faecalis-Gruppe, das er bei typhusverdächtigen Infektionen von 6 Matrosen 1mal aus dem Blut, das anderemal aus dem Stuhl gezüchtet hat, für den wahrscheinlichen Erreger dieser Erkrankungen. Nach Oppenheimer ist als Erreger der Pyelitis unter anderen auch das *Bact. faecale* ermittelt worden. Dagegen sprechen Felsenreich und Trawinski, auf Grund von Erfahrungen an einem umfangreichen Obduktionsmaterial, die Ansicht aus, daß für ein parasitisches Verhalten des *Bact. faecale* im menschlichen Organismus keine verwertbaren Resultate vorliegen.

Was nun unsere Fälle anbelangt, so fand sich der Stamm 1821 bei einem Pat. mit bakteriologisch nachgewiesenem Paratyphus A, der Stamm 2502 bei einem ebenso nachgewiesenen Typhus abdominalis und der Stamm 2789 bei einem Manne mit einem anscheinend nicht spezifischen Magen-darmkatarrh. Es ergibt sich demnach für die 2 ersten Fälle kein Grund, die im Stuhl gefundenen Stämme als krankheitserregende Bakterien anzusehen, da die wirklichen Erreger in beiden Fällen sichergestellt wurden. Für eine pathogene Bedeutung des Stammes 2789 spricht ebenso wenig wie gegen eine solche. Das bloße Vorhandensein dieser Stämme im Stuhl unserer Kranken, selbst wenn es sich, wie im Falle 1, fast um

eine Reinkultur handelt, beweist noch nicht die spezifisch pathogene Bedeutung für die betreffende Erkrankung, eine Ansicht, die gerade bei der Frage der Pathogenität des *Bacterium faecale* bereits Baumgarten ausgesprochen hat. Bekanntlich ist es gerade das *Bact. faecale*, das sich bei Typhus- und Paratyphusrekonvaleszenten, wie wir selber häufig sehen konnten, reichlich und manchmal direkt in Reinkultur in den Faeces der Patienten vorfindet.

Etwas auffallend und einer Erklärung bedürftig ist die Frage der Agglutination unserer Stämme mit dem Krankenserum, eine Erscheinung, die ja von den Meisten für die Beurteilung der Pathogenität von Mikroben herangezogen zu werden pflegt. Nun agglutinierte das Serum des Kranken den Stamm 1821 bis 1:400, den Stamm 2502 bis 1:200, den Stamm 2789 nur bis 1:40. Einen derartig hohen Agglutinationswert, wie ihn namentlich das Krankenblut im 1. Falle aufzuweisen hat, würde man bei jedem unserer pathogenen Darmbakterien unbedingt als hochpathognomonisch für die betreffende Infektion ansehen müssen. Nun scheinen auch Begleitbakterien, die in keinem ätiologischen Zusammenhang mit der betreffenden Infektionskrankheit stehen, vom Krankenserum im positiven Sinne beeinflusst zu werden, wie wir es in letzter Zeit am *Bakterium Felix-Weil*, dem beim Fleckfieber vorkommenden Bakterium aus der *Proteus*-Gruppe, erfahren haben. Es scheint unter Umständen die bloße Anwesenheit eines Mikroorganismus im menschlichen Körper zu genügen, um homologe Agglutinine zu erzeugen. Wir wissen hinlänglich, daß die Agglutination nicht immer etwas Spezifisches ist, und so konnten wir es einigemal beobachten, daß ein Dysenterie-Immunserum nicht nur Dysenteriebakterien, sondern auch Bakterien aus der *Coli*-Gruppe agglutinierte, eine Erscheinung, über die schon früher unter anderen von Kuhn und Voithe berichtet wurde. Wie wenig die Wirkung der Immunsera spezifisch ist, beweisen ja deutlich unsere beiden ersten Fälle, wo Stämme aus der Gruppe des *Bact. faecale* mit Typhus- und Paratyphus A- und B-Serum bis zu mehrhundertfacher Verdünnung deutlich agglutiniert werden. Auffallend ist das serologische Verhalten der Stämme 1821 und 2502 im Gegensatz zum Stamm 2789. Die beiden ersten entstammen 2 Patienten mit einem sicheren Typhus, bzw. Paratyphus, der letzte einem Patienten mit einem unspezifischen Darmkatarrh. Die beiden ersten Fälle hatten erwiesenermaßen reichlich Agglutinine gebildet, dagegen war der Widal beim letzten so gut wie negativ. Sowohl Stamm 1821 als auch 2502 wurden vom Typhus- und Paratyphusserum stark beeinflusst, zugleich aber auch vom Krankenserum; beim Stamm 2789 war beides nicht der Fall. Es wäre nun möglich, daß die beiden ersten Stämme als Begleitbakterien vorübergehend in die Blutbahn gelangt waren und die bereits durch die Infektion mit Typhus-, bzw. Paratyphusbakterien in der Produktion von Agglutininen befindlichen Körperzellen zur Bildung und Abstoßung der homologen Rezeptoren veranlaßt haben. Hiermit wäre die Agglutination der beiden Stämme mit dem Krankenserum erklärt, während sich die Erscheinung, daß dieselben auch von Typhus- und Paratyphusserum so stark beeinflusst werden, einer näheren Erklärung entzieht. Es sei nur darauf hingewiesen, daß *Coli*-Stämme, die aus den Faeces Typhuskranker gezüchtet wurden, nicht selten von Typhusserum agglutiniert werden, ebenso wie frisch aus dem Körper gezüchtete *Ypsilon*stämme (Conradi, Lentz, Gaehtgens u. a.)

Als letztes Argument gegen eine pathogene Bedeutung unserer 3 Stämme spricht auch das Fehlen der Tierpathogenität, die bekanntlich bei allen unserer infektiösen Darmparasiten mehr oder minder vorhanden ist.

Desgleichen sind wir geneigt, den Stamm R, den wir in Reinkultur in der Galle einer wegen Cholecystitis und Cholelithiasis operierten Frau gefunden haben, eine pathogene Bedeutung als Erreger dieser Entzündung abzusprechen. Der Prozeß in der Gallenblase erwies sich (wie auch die histologische Untersuchung ergab) als chronisch; dennoch besaß das Serum der Kranken keine Agglutinine gegen diesen Stamm. Für Mäuse war er nicht pathogen. Wir sind geneigt, auch hier das Vorhandensein eines der Gattung *Alcaligenes* nahestehenden Bakteriums in der Gallenblase als einen akzidentellen, pathologisch unwesentlichen Befund aufzufassen.

Was den letzten Fall anbelangt, so vermag auch die nachgewiesene Tierpathogenität des Stammes Byk nicht, uns von seiner spezifisch-pathogenen Bedeutung zu überzeugen, zumal der Kranke, laut Krankengeschichte, anscheinend gar nicht oder vielleicht nur unbedeutend und ganz kurze Zeit hindurch darmkrank war und keine Agglutinine aufwies.

Wir fassen das wesentlichste unserer kurzen Mitteilung in folgenden Sätzen zusammen:

Wir fanden bei einem Typhus abdominalis, einem Paratyphus A sowie einem anscheinend nicht spezifischen Darmprozeß in den Faeces der Kranken 3 untereinander fast gleichartige Stämme, die wir als dem *Bacterium faecale alcaligenes* naheverwandte Arten ansehen.

Eine pathogene Bedeutung für den Menschen glauben wir bei ihnen, ebenso wie beim *Bacterium faecale alcaligenes*, ausschließen zu dürfen.

Auf Grund unserer Beobachtungen und der in der Literatur niedergelegten Erfahrungen möchten wir den Begriff der „Faecalis-Gruppe“ folgendermaßen formulieren:

Es gibt in der Darmflora eine Reihe alkalibildender Bakterien, die wir unter dem Namen „*Alcaligenes*-Gruppe“ zusammenfassen möchten.

Zu dieser Gruppe oder Gattung gehört in erster Linie der „*Bacillus faecalis alcaligenes*“ (Petruschky). Diesem begegnen wir in 2 Varianten, die sich lediglich durch den Kolonientypus voneinander unterscheiden.

Als eine selbständige, aber naheverwandte Bakterienart in der *Alcaligenes*-Gruppe fassen wir die im vorhergegangenen beschriebenen Stämme 1821, 2502 und 2789 auf.

Zwischen diesen beiden Arten stehen jene Arten, die biologisch und kulturell dem echten *Faecalis* gleichen, vom *Faecalis*-Serum jedoch nicht oder nur in belanglosem Maße beeinflusst werden.

In der Galle einer Frau mit Cholecystitis fanden wir ein Bakterium, das gleichfalls ein starker Alkalibildner ist, trotzdem in ge-

wissen Zuckerarten (so auch in Milchsucker) vorübergehend Säure bildet, im weiteren Wachstumsverlauf aber mit kräftiger Alkalibildung einsetzt. Auf Grund seiner biologischen und kulturellen Eigenschaften halten wir ihn für ein der Alcaligenes-Gruppe nahestehendes Bindeglied zwischen dieser und der Gruppe des *Bacterium coli*.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Baumgarten, Jahresber. üb. path. Mikroorg. Jahrg. 26. 1910.
- 2) Baerthlein, Berlin. klin. Wochenschr. 1912. No. 4.
- 3) Berghaus, zit. nach Jahresber. üb. path. Mikroorg. No. 26. 1910.
- 4) Conradi, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 44. 1909.
- 5) Felsenreich u. Trawinski, Oesterr. Sanitätswes. Jahrg. 28. No. 36—43.
- 6) Fürth, München. med. Wochenschr. 1913.
- 7) Gaetgens, Lubarsch-Ostertag. Bd. 18. 1915.
- 8) — zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43.
- 9) Gildemeister u. Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913.
- 10) Hamm, München. med. Wochenschr. 1910. No. 5.
- 11) Hanser u. Springer, Deutsch. med. Wochenschr. 1912. No. 18.
- 12) Klimenko, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. Heft 8.
- 13) Kuhn u. Woith, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. 1909.
- 14) Kühnemann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. Heft 5.
- 15) Lentz, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 44. 1909.
- 16) Oppenheimer, Zeitschr. f. med. Chir. Bd. 1. 1913.
- 17) Petruschky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 1896. No. 6/7.
- 18) Ridder, Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 50.
- 19) Straub u. Kraus, Deutsch. med. Wochenschr. 1914.
- 20) Trincas u. Olla, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 43. 1909.

(G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Praxis und Theorie der Weil-Felixschen Reaktion.

[Aus einem bakteriologischen Laboratorium im Felde.]

Von Prof. W. Oettinger, Stabsarzt d. Res.

Wie bei so vielen ansteckenden Krankheiten, deren Erreger lange Zeit unentdeckt geblieben oder noch heute unbekannt sind, werden auch beim Fleckfieber immer wieder Mikroorganismen beschrieben, die als die Erreger der Krankheit angesehen werden sollen. Es sei hier nur an die Befunde von Predtjeschenski, Fürth, Müller, Rabinowitsch, Kladutzki, Arnheim, Plotz, Petruschky, Goldstein und vielen anderen<sup>1)</sup> erinnert, Befunde, die mit größerer oder ge-

1) Während der Ausführung der Untersuchungen, über die ich berichte, wie bei der Abfassung meiner Arbeit, stand mir die ältere Literatur gar nicht zur Verfügung: von der neueren konnte ich nur die laufenden Hefte der 4 großen deutschen Wochenschriften einsehen, und auch diese nicht lückenlos. Soweit ich in meinen Ausführungen auf frühere Untersuchungen Bezug nehmen muß, bin ich daher auf meine Erinnerungen angewiesen. Daraus ergibt sich ohne weiteres, daß Vollständigkeit der Literaturangaben ausgeschlossen ist; aber auch die eine oder andere irrthümliche wird sich kaum ganz vermeiden lassen. In den Fußnoten werde ich nur die Arbeiten angeben, die ich bei der Niederschrift im Original oder in Referaten einsehen konnte. Die Arbeit ist im August 1917 abgeschlossen.

ringerer Bestimmtheit in ätiologische Beziehung zum Fleckfieber gebracht worden sind. So sehr wir geneigt sind, derartigen Angaben von vornherein erhebliche Zweifel entgegenzubringen, so läßt es sich doch nicht leugnen, daß viele der genannten Autoren ihre Angaben mit gewichtigen Gründen stützen konnten. Zwar entsprach keiner der Keime der alten Kochschen Forderung, der klassischen Trias der von einem Krankheitserreger zu erfüllenden Bedingungen. Aber wir dürfen uns nicht verhehlen, daß die Erfüllung dieser Forderung auch bei allgemein anerkannten und wissenschaftlich gesicherten Krankheitserregern keineswegs in allen Fällen geglückt ist. Scheitert doch die verlangte „Konstanz des Nachweises in allen Krankheitsfällen“ nur zu oft an technischen Schwierigkeiten und an der geringen Zahl der vorhandenen Keime. Der „positive Ausfall des Tierversuches mittels der Reinkultur“ fällt ohne weiteres fort bei den Erregern, die auf künstlichen Nährböden nicht gezüchtet werden können, ist ja aber auch sonst keineswegs immer zu erzielen. Und die Forderung nach der „Ausschließlichkeit“ des Vorkommens der fraglichen Erreger bei Kranken, nach ihrem Fehlen bei Gesunden, läßt sich überhaupt nicht mehr aufrechterhalten, seitdem sich gezeigt hat, daß gesunde Bazillenträger viel häufiger sind, als wir früher annahmen.

Wir haben uns daran gewöhnt, an die Stelle dieser unsicher gewordenen Beweismittel ein anderes zu setzen: den positiven Ausfall der Immunitätsreaktionen, das Auftreten spezifischer Antikörper im Blute der Erkrankten gegenüber den mutmaßlichen Erregern. Allgemein herrscht die Auffassung, daß ein Mikroorganismus, der, aus dem Krankenkörper gezüchtet, mit dem Blutserum von Kranken und nur von diesen eine oder mehrere der charakteristischen Immunitätsreaktionen gibt, etwa bis zu hoher Verdünnung agglutiniert wird, mit Sicherheit als der Krankheitserreger zu betrachten ist.

Da mußte es denn in hohem Maße Verwunderung erregen, daß die meisten der oben erwähnten, bei Fleckfieber gezüchteten Bakterien nach den Angaben ihrer Entdecker vom Blutserum der Fleckfieberkranken in durchaus spezifischer Weise agglutiniert werden oder auch mit ihm Komplementbindung geben. Darin erblickten die meisten einen bündigen Beweis für die Erregernatur ihrer Bakterien — durchaus im Einklang mit den herrschenden Anschauungen, wie nicht geleugnet werden kann. So schreibt beispielsweise Popoff<sup>1)</sup> über den von Plotz zuerst gezüchteten und auch von ihm wiederholt gefundenen anaëroben Bacillus, nachdem er gezeigt hat, daß die gezüchteten Stämme vom Krankenserum agglutiniert werden: „Alle diese Versuche zeigen, daß die aus dem Blute Fleckfieberkranker gezüchteten Stämme in einem ätiologischen Zusammenhang mit dem Fleckfieber stehen müssen, denn wir haben bis jetzt keinen Präzedenzfall in der Bakteriologie, wo ein beliebiger Stamm eine so starke Reaktion mit einem bestimmten und immer nur von derselben Krankheit — dem Fleckfieber — stammendem Serum aufweist und sich gegen andere Sera, seien sie von Kranken oder Gesunden, negativ verhält.“

Niemand würde diesem Gedankengang widersprechen, wenn er nicht eben gleichmäßig auf mehrere der angeschuldigten Bakterienstämme angewandt werden könnte — zweifellos ein Widerspruch in sich selbst, der der Deutung Schwierigkeiten macht. Besonders auffallend wurde

1) Popoff, Ueber den *Bacillus typhi exanthematici* Plotz. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. No. 16.)



dieser Widerspruch, als Weil und Felix aus dem Urin und später auch aus dem Blut von Fleckfieberkranken *Proteus*-Stämme züchteten, die ebenfalls eine, zum Teil ganz besonders deutliche, Agglutinationsreaktion mit dem Blutserum von Fleckfieberkranken gaben, ohne daß Weil und Felix selbst sie deshalb als die Erreger der Krankheit ansprachen.

Gerade diese Reaktion hat in der Folgezeit eine ganz außerordentliche Bedeutung gewonnen. Ohne Zweifel ist auf dem Gebiete der bakteriologischen Diagnostik in ihr die größte und wichtigste Errungenschaft der letzten Jahre zu sehen. Ihre große Bedeutung rechtfertigt es, wenn ich im folgenden zunächst über die praktischen Erfahrungen ausführlich berichte, die ich während des ersten Jahres ihrer Anwendung gemacht habe. Zwar dürften Meinungsverschiedenheiten über den Wert und die Brauchbarkeit der Methode als Hilfsmittel der Fleckfieberdiagnose nicht mehr bestehen, seitdem allgemein der Stamm x 19 zur Diagnose benutzt wird. Trotzdem, und obwohl bereits mehrere Untersucher [Dietrich<sup>1)</sup>, Kolle und Schloßberger<sup>2)</sup>, Soucek<sup>3)</sup>, Reichenstein und Silbiger<sup>4)</sup>, Schürer und Stern<sup>5)</sup>] das Ergebnis ihrer Nachprüfungen mitgeteilt haben, halte ich es nicht für überflüssig, auch über meine Erfahrungen zu berichten. Denn in manchen Einzelheiten stimmen die Angaben der Autoren keineswegs völlig überein, und auch meine Ergebnisse weichen in manchen wichtigen Punkten von bisher veröffentlichten ab. Zu einem sicheren Urteil, z. B. über den niedrigsten Titer, der bereits als beweisend für Fleckfieber gelten kann, über den Zeitpunkt des ersten Auftretens der Reaktion beim Erkrankten, ihres Verschwindens beim Genesenen, werden wir nur kommen können, wenn möglichst zahlreiche Stellen über ihre praktischen Erfahrungen Mitteilung machen. Wir brauchen uns ja nur an die Entwicklung der Gruber-Widalschen Reaktion beim Typhus zu erinnern: Anfangs wurde eine Agglutination in der Serumverdünnung von 1:20 bereits für beweisend gehalten; mit zunehmender Erfahrung mußte die Grenze immer weiter hinausgeschoben werden, bis wir schließlich dazu kamen, erst einem Titer von 1:80 oder 1:100 eine gewisse Beweiskraft zuzuerkennen. Es bedurfte einer kaum übersehbaren Zahl von Veröffentlichungen und der Zusammenarbeit zahlreicher Kliniker und Bakteriologen, ehe alle Fehlerquellen der Reaktion bekannt waren und die Widalsche Reaktion die feste und unbestrittene Stellung in der Typhusdiagnose erhielt, die sie bis zur allgemeinen Durchführung der Schutzimpfung eingenommen hat.

Dazu kommt, daß mein Material, obwohl es an sich keineswegs besonders umfangreich ist — manche Laboratorien werden nach kürzerer Zeit über weit mehr Untersuchungen verfügen — doch beträchtlich größer ist, als es den anderen bisher veröffentlichten Nachprüfungen zugrunde lag.

1) Dietrich, Beiträge zur Weil-Felixschen Reaktion beim Fleckfieber. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. No. 51.)

2) Kolle u. Schloßberger, Serologische Untersuchungen bei Fleckfieber. (Med. Klin. 1917. No. 10.)

3) Soucek, Zur klinischen und serologischen Diagnose des Fleckfiebers. (München. med. Wochenschr. 1916. No. 51.)

4) Reichenstein u. Silbiger, Die Agglutinationskurve der typhösen Erkrankungen und des Fleckfiebers. (München. med. Wochenschr. 1917. No. 23.)

5) Schürer u. Stern, Zur serologischen Diagnose des Fleckfiebers. (München. med. Wochenschr. 1917. No. 27.)

## I.

Zur Agglutination benutzte ich 15—20-stündige Agarkulturen des Weil-Felixschen Proteus x 19, nachdem die ersten Versuche gezeigt hatten, daß nur dieser sich zur praktischen Verwendung eignet. In der Tat ist das ungünstige Urteil, das Ghon und Roman<sup>1)</sup>, das zurückhaltende Urteil, das Besserer u. a.<sup>1)</sup> über die Reaktion abgegeben haben, auf die Benutzung der anfangs gezüchteten Stämme x 1 und 2 zurückzuführen und daher für den Stamm x 19 belanglos. Der Stamm war mir von Herrn Prof. Bail in Prag freundlichst zur Verfügung gestellt worden.

Die Kulturen wurden täglich übergeimpft, und zwar von Platte zu Platte, wie ich ausdrücklich betonen möchte, da neuerdings die Meinung vertreten worden ist, daß Plattenkulturen schlechter agglutinabel seien, als Kulturen auf Schrägagarröhrchen — eine Behauptung, die meines Erachtens weder durch die praktische Erfahrung gestützt wird, noch einer theoretischen Erklärung zugänglich wäre.

Zur Agglutination wurde in jedem Röhrchen der angewandten Verdünnungen, 1:25, 50 usw., je eine Oese Kultur einzeln verrieben — leider abweichend von der mir nicht bekannten Vorschrift von Weil und Felix, die von einer Kulturaufschwemmung tropfenweise zugesetzt haben, und anscheinend auch abweichend von den bisher veröffentlichten Nachprüfungen. Beobachtet wurde lediglich mit bloßem Auge, zunächst nach 4-stündigem Aufenthalt bei 37°; die endgültige Beurteilung jedoch erfolgte erst nach weiterem mehrstündigen Stehen in der Kälte.

Bei der Beurteilung des Resultats fällt zunächst auf, daß die Agglutination in den stärkeren Konzentrationen ganz außerordentlich grobflockig ist. Unter den an sich bereits groben Flocken aber finden sich große Brocken und Fetzen von verschiedenster Größe und Gestalt. Ja, bei den stärksten Graden der Agglutination sind nur solche ganz großen Fetzen gebildet, manchmal sind sämtliche Keime zu einem einzigen Häutchen verklebt. Diese außerordentlich grobflockige Agglutination mit der Bildung größerer Brocken und Fetzen ist das charakteristische Merkmal der Weil-Felixschen Reaktion, das sie von den anderen bekannten Agglutinationsreaktionen unterscheidet. Insbesondere ist auch die grobklumpige Agglutination der Ruhrbazillen, auf die neuerdings für die Ruhrdiagnose der größte Wert gelegt wird (Friedemann und Steinbock, Dünner, Jacobitz u. a.), doch gar nicht zu vergleichen mit der Fetzenbildung bei der Weil-Felixschen Reaktion. Insbesondere ist hervorzuheben, daß diese — im Gegensatz zur grobflockigen Ruhragglutination — auch nach kräftigem Schütteln unverändert erhalten bleibt; selbst eine mehrstündige Wagenfahrt über das Pflaster einer russischen Großstadt, die in ihrer Wirkung einem längeren Aufenthalt im Schüttelapparat vergleichbar ist, vermag nicht die groben Flocken und Fetzen zu trennen.

Merkwürdigerweise ist diese Eigentümlichkeit der Weil-Felixschen Reaktion, soweit ich sehen kann, bisher nirgends erwähnt worden. Nur in 2 Arbeiten ist diese Frage überhaupt gestreift. Kollé und Schloßberger betonen zwar, daß sich „in Verdünnungen bis etwa 1:1000 eine grobbleiche Verklumpung zeigt, die zur völligen Klärung der Röhrchen führt; aber sie schränken diese Angabe wieder durch den

1) Verhandl. d. außerordentl. Tagung d. Deutsch. Kongr. f. inn. Med. 1916.

Tabelle 1 (Fleckfieberkranke).

No. des Falles	Krankheitstag	Stärkste Verdün- nung mit		Be- merkungen	No. des Falles	Krankheitstag	Stärkste Verdün- nung mit		Be- merkungen
		a) grob- flockiger Aggluti- nation	b) fein- körniger Aggluti- nation				a) grob- flockiger Aggluti- nation	b) fein- körniger Aggluti- nation	
1	17.	1:267	1:533	s. Tab. 2 <sup>1)</sup> , No. 9	37	9.	1:800	1:3200	
2	17.	400	3200	Tab. 2, No. 2	38	14.	50	400	
3	12.	800	3200	" 2, " 20	39	10.	1600	3200	
4	5.	200	800	" 2, " 8	40	3.	—	25	
5	3.	(100 —)	(100 —)	1:25 und 50 nicht unters.	41	6.	1600	6400	
					42	8.	200	800	
	6.	200	400		43	4.	25	400	
6	3.	200	400		44	8.	100	400	
	6.	800	3200	gest. a. 7. Tag	45	8.	800	1600	
7	9.	.	100	1:25 und 50 nicht unters.	46	5.	800	1600	
					47	5.	400	1600	
	12.	400	800		48	12.	400	1600	
8	.	800	1600		49	4.	50	400	
9	6.	50	200		50	7.	100	800	
	10.	1600	25 600		51	7.	100	400	
10	4.	25	100		"	12.	200	800	
	10.	50	400		52	4.	—	100	} Tab. 2, No. 58
11	4.	200	800		"	6.	—	100	
12	5.	100	400		"	9.	100	400	
13	6.	25	50	} Tab. 2, No. 27	52	9.	200	1600	} Tab. 2, No. 56
"	8.	100	400		53	12.	50	800	
"	13.	200	800		54	8.	—	100	
14	10.	800	3200		"	13.	200	3200	
15	5.	100	400		55	.	800	3200	
"	10.	800	6400		56	7.	25	50	} Tab. 2, No. 57
16	6.	400	800		"	10.	200	400	
17	11.	50	400	Tab. 2, Nr. 21	57	7.	—	50	
18	17.	200	3200	" 2, " 26	"	14.	100	800	
19	7.	100	800	" 2, " 22	58	4.	—	25	
20	8.	—	50	" 2, " 23	"	11.	25	200	
21	5.	400	1600	" 2, " 25	59	7.	200	800	
22	4.	100	800		60	9.	1600	6400	
23	7.	100	1600		61	3.	—	100	
"	10.	800	3200		"	7.	200	3200	
24	1.	—	100		62	6.	—	50	
"	4.	800	6400		"	11.	50	400	
25	8.	800	3200		63	11.	400	3200	
26	4.	1600	6400		64	6.	25	100	} Tab. 2, No. 61
27	5.	50	100		"	10.	25	400	
"	7.	200	800		65	7.	400	3200	} Tab. 2, No. 62
"	10.	400	1600		66	1.	—	100	
28	.	400	1600		"	7.	—	50	
29	.	800	3200		"	11.	50	200	
30	.	200	400		67	3.	200	1600	
31	.	800	1600		68	.	400	6400	
32	9.	800	1600		69	14.	100	400	} Tab. 2, No. 37
33	.	1600	6400		70	.	50	400	
34	.	3200	6400		71	11.	200	400	
35	.	800	3200		72	7.	—	—	
36	.	1600	—	1:1600 große Fetzen, 1:3200 negat.	"	8.	50	200	
					"	9.	200	800	
					"	11.	1600	3200	
					73	2.	—	—	

1) Eine Anzahl der Kranken ist auch während der Genesung untersucht worden, zum Teil wiederholt. In beiden Tabellen ist die Nummer des Falles in der anderen Tabelle angegeben.

No. des Falles	Krankheitstag	Stärkste Verdün- nung mit		Be- merkungen	No. des Falles	Krankheitstag	Stärkste Verdün- nung mit		Be- merkungen	
		a) grob- flockiger Aggluti- nation	b) fein- körniger Aggluti- nation				a) grob- flockiger Aggluti- nation	b) fein- körniger Aggluti- nation		
73	3.	1: 25	1: 200		110	.	1: 3200	1: 12 800		
	7.	800	3200		111	7.	200	800		
74	2.	—	—	} Tab. 2, No. 63	112	3.	100	200		
	6.	200	1600		113	5.	—	25	} Tab. 2, No. 90	
75	.	800	3200		114	12.	50	400		} Tab. 2, No. 89
76	7.	1600	3200	} Tab. 2, No. 65	115	10.	50	200		
	10.	1600	6400			116	3.	—	50	
77	6.	—	25		117	10.	200	800	} Tab. 2, No. 98	
	7.	—	50		118	5.	100	800		
	10.	50	200		119	.	200	1600		
78	6.	25	100		120	11.	200	3200		
	10.	50	400		121	7.	800	1600		
	14.	100	400		122	4.	200	400		
79	10.—14.	12 800	60 000	Tab. 2, No. 67	123	7.	100	400	Tab. 2, No. 74	
80	4.	50	100	} Tab. 2, No. 79	124	2.	—	—	} Tab. 2, No. 103	
	9.	400	1600		125	7.	200	1600		
81	.	1600	3200		126	10.	800	3200		
82	.	200	400		127	2.	—	100	} Tab. 2, No. 75	
83	.	3200	25 600		128	3.	—	100		
84	.	1600	6400		129	5.	—	200		
85	.	100	800		130	8.	100	400		
86	.	800	1600		131	12.	100	1600		
87	.	100	400		132	12.	200	400		
88	7.	50	800	} Tab. 2, No. 73	133	9.	50	800	} Tab. 2, No. 94	
	10.	800	3200		134	7.	400	1600		
89	3.	200	800	} Tab. 2, No. 60	135	12.	6400	—	} Tab. 2, No. 94 1: 6400 grob, 1: 12 800 —	
90	7.	50	400		136	.	—	—		
91	10.	1600	12 800	„ 2, „ 66	137	.	100	800		
92	6.	50	100		138	.	6400	12 800		
	10.	3200	12 800		139	.	3200	12 800		
93	.	100	200		140	6.	—	—		
94	.	800	3200		141	7.	—	100		
95	13.	1600	6400	Tab. 2, No. 64	142	14.	50	400		
96	.	50	100	} Tab. 2, No. 72	143	5.	—	—		
	.	400	1600		144	6.	25	100		
97	.	50	100	} Tab. 2, No. 70	145	9.	400	1600	} Tab. 2, No. 100	
	.	400	1600		146	3.	100	400		
98	2.	—	—		147	6.	100	100	} Tab. 2, No. 93	
	3.	—	25		148	8.	200	800		
	6.	—	25		149	9.	100	1600	} Tab. 2, „ 92	
	12.	200	800		150	5.	400	1600		
99	14.	800	6400		151	7.	100	1600	} Tab. 2, „ 99	
	.	50	100	} Tab. 2, No. 71	152	9.	1600	6400		
	.	400	800		153	6.	200	800		
101	12.	800	1600		154	10.	800	3200		
102	.	25	100		155	7.	200	400		
	.	400	800		156	6.	3200	6400		
103	4.	400	800	Tab. 2, No. 96	157	7.	6400	12 800		
104	4.	400	—	1: 400 grobfl., 800 negativ	158	8.	100	800	} Tab. 2, No. 104	
	.	50	200		159	10.	400	1600		
106	3.	100	400		160	7.	25	400		
107	2.	—	—		161	5.	100	—	} Tab. 2, No. 104 1: 100 grobfl., 200 negativ	
	5.	800	1600		162	9.	800	6400		
	10.	3200	50 000	Leichenblut	163	6.	200	400		
108	.	25	200		164	3.	50	400		
109	.	3200	6400							

Tabelle 2. (Entfieberte.)

No. des Falles	Zeit nach der Entfieberung	Stärkste Verdünnung mit		Bemerkungen	No. des Falles	Zeit nach der Entfieberung	Stärkste Verdünnung mit		Bemerkungen
		a) grob-flockiger Agglutination	b) feinkörniger Agglutination				a) grob-flockiger Agglutination	b) feinkörniger Agglutination	
1	5. Tag	(1:50—)	(1:50—)	1:25 nicht untersucht	41	10.—14.Tag	1:800	1:3200	
2	1. "	1:800	1600	Tab. 1, No. 2 <sup>1)</sup>	42	10.—14. "	800	3200	
"	5. "	1600	6400		43	10.—14. "	800	1600	
"	11. "	800	3200		44	10.—14. "	400	3200	
"	18. "	800	1600		45	10.—14. "	800	6400	
3	6. "	800	3200		46	10.—14. "	1600	6400	
4	20. "	100	1600		47	10.—14. "	1600	12 800	
5	12. "	200	1600		48	10.—14. "	800	3200	
6	1. "	1600	6400		49	10.—14. "	200	3200	
"	18. "	200	1600		50	10.—14. "	800	3200	
7	1. "	400	3200		51	10.—14. "	1600	12 800	
7	18. "	100	800		52	10.—14. "	100	400	
8	1. "	100	400	Tab. 1, No. 4	53	10.—14. "	400	800	
9	1. "	400	1600	Tab. 1, No. 1	54	10.—14. "	1600	6400	
"	7. "	200	800		55	10.—14. "	1600	3200	
"	18. "	400	1600		56	17. Tag	400	1600	Tab. 1, No. 52
10	4. "	200	800		57	3. "	400	3200	" 1, " 54
11	5. "	200	800		58	15. "	50	100	" 1, " 51
12	9. "	—	100		59	5. "	25	100	
13	8. "	25	100		60	14. "	25	100	
14	8. "	800	1600		61	6. "	6400	25 600	Tab. 1, No. 90
15	5. "	800	1600		"	18. "	800	1600	Tab. 1, No. 68
16	9. "	800	1600		62	21. "	25	100	" 1, " 68
17	13. "	400	1600		63	21. "	100	800	" 1, " 74
18	14. "	—	50		64	2. "	100	400	" 1, " 94
19	21. "	200	800		65	2. "	800	6400	" 1, " 94
20	12. "	800	3200	Tab. 1, No. 3	"	6 Wochen	800	3200	Tab. 1, No. 74
"	18. "	800	6400	Tab. 1, No. 17	"	8. "	50	1600	Tab. 1, No. 74
21	7. "	200	800		66	11. Tag	100	400	Tab. 1, No. 91
22	18. "	—	100	Tab. 1, No. 19	"	21. "	200	1600	1:400 grobfl
"	3. "	400	800	Tab. 1, No. 20	"	21. "	400	—	800 —
"	18. "	50	800		67	1. Woche	12 800	30 000	Tab. 1, No. 74
23	3. "	400	800		68	15. Tag	—	50	
24	1. "	1600	12 800		69	2 Monate	50	400	Tab. 1, No. 91
"	18. "	200	1600	Tab. 1, No. 21	70	6 Wochen	100	400	" 1, " 100
25	18. "	800	3200	" 1, " 18	71	5. "	200	800	" 1, " 94
26	18. "	100	800	" 1, " 13	72	7. "	—	50	" 1, " 8
27	18. "	200	400		73	6. "	100	200	
28	7. "	400	800		74	23. Tag	25	100	
29	6. "	800	3200		"	7 Wochen	100	200	Tab. 1, No. 121
30	14. "	25	100		"	8. "	50	100	
31	14. "	—	25		"	11. "	—	100	
32	6. "	1600	3200		"	13. "	50	100	
33	6. "	1600	3200		75	21. Tag	50	200	Tab. 1, No. 12
34	2. "	100	400		76	5. "	25	200	
35	4. "	100	400		"	13. "	—	50	
"	10. "	800	3200		"	21. "	25	50	
36	4. "	200	1690		77	7. "	800	3200	
37	14. "	50	100	Tab. 1, No. 69	"	22. "	—	200	
38	10.—14.Tag	200	1600		78	7. "	25	200	
39	10.—14. "	800	6400		79	7. "	200	400	Tab. 1, No. 8
40	10.—14. "	200	800		80	6 Wochen	100	200	

1) Vgl. die Anmerkung zu Tabelle 1.

Fälle No.	Zeit nach der Ent- fieberung	Stärkste Verdün- nung mit		Be- merkungen	Fälle No.	Zeit nach der Ent- fieberung	Stärkste Verdün- nung mit		Be- merkungen
		a) grob- flockiger Agglu- tination	b) feinkörniger Agglu- tination				a) grob- flockiger Agglu- tination	b) feinkörniger Agglu- tination	
31	6 Wochen	1:100	1:400		98	6 Wochen	1:50	1:100	} Tab. 1, No. 116
32	4 "	200	800		"	8 "	—	100	
33	7. Tag	800	6400		"	11 "	50	100	
34	4 Wochen	25	100		"	13 "	50	100	
35	3 "	50	400		99	11. Tag	3200	25 600	} Tab. 1, No. 137
36	11. Tag	100	400		"	6 Wochen	800	3200	
37	6. "	400	3200		"	8 "	800	1600	
38	3. "	200	1600		"	10 "	400	800	
39	7. "	100	3200	{ Tab. 1, No. 114	100	21. Tag	800	3200	} Tab. 1, No. 138
40	14. "	400	800		101	3 <sup>1</sup> Jahre	—	—	
41	4 Wochen	50	100	Tab. 1, No. 113	102	3 Wochen	400	1600	} Tab. 1, No. 122
42	14. Tag	25	200		103	7 "	—	100	
43	8. "	800	1600	" 1, " 136	"	9 "	25	100	
44	9. "	6400	—	" 1, " 135	"	11 "	25	50	
45	21. "	400	1600	" 1, " 127	104	4. Tag	800	3200	} Tab. 1, No. 144
46	15 Monate	—	—		"	20. "	400	1600	
47	9 Wochen	50	100	" 1, " 103	"	28. "	200	1600	
48	9. Tag	400	1600	" 1, " 139					

Vergleich ein, „wie sie sich sonst nur mit künstlichen, durch langdauernde Vorbehandlung hergestellten Serumpräparaten erzielen läßt“, einen Vergleich, den ich nach dem oben Gesagten keineswegs für zutreffend halten kann. Dietrich aber hebt ausdrücklich hervor, daß „die spezifische Ausfällung meist charakteristisch feinkörnig und von auffallend gleichmäßiger Flockengröße ist. „Diese Angabe Dietrichs ist mir völlig unverständlich: ich habe eine ähnlich grobflockige Agglutination, noch dazu mit Beimischung besonders großer und ganz unregelmäßiger Brocken und Fetzen, bei keinem anderen Bakterium jemals gesehen.

Bei der Beurteilung lege ich auf diese grobflockige Agglutination den größten Wert. Im allgemeinen findet man eine deutliche Abstufung: In den stärksten Konzentrationen grobflockige Agglutination, mit einzelnen größeren Fetzen, oder auch nur solche großen Fetzen, dann einige Verdünnungen mit grobflockiger Agglutination, aber ohne besonders große Stücke, schließlich feinkörnige Agglutination in gleichmäßig abnehmender Stärke. Es kommt aber auch vor, daß der Endtiter der grobflockigen Agglutination zugleich den Endtiter der Reaktion überhaupt darstellt, oder daß auf das letzte Röhrchen mit größeren Brocken und Fetzen nur noch eine Verdünnung mit feinkörniger Agglutination in Spuren folgt. Bei hohem Endtiter ist fast stets wenigstens im ersten oder in den ersten Röhrchen die Agglutination grobflockig. Sollte das ausnahmsweise nicht der Fall, sondern die Reaktion auch bei 1:25 und 1:50 nur feinkörnig sein, so würde ich mich nicht dazu entschließen können, den Ausfall als einwandfrei positiv anzuerkennen, selbst wenn die feinkörnige Agglutination sehr weit gehen sollte.

Die Resultate, die ich im ersten Jahre der Anwendung der Weil-Felix-schen Reaktion, d. h. von Juli 1916 bis Juli 1917, erzielt habe, sind in den nachstehenden Tabellen (1 und 2) aufgezeichnet, getrennt nach Kranke und Genesenen. Die Zahl der Untersuchungen betrug ins-

gesamt 350, und zwar 211 bei 148 fiebernden Kranken, 139 bei 104 Genesenen.

Entscheidend für die Beurteilung sind offenbar die Ergebnisse der Kontrolluntersuchungen bei Gesunden und Kranken. Von ihnen hängt insbesondere die Feststellung ab, welcher Titer als beweisend für Fleckfieber gelten soll. Wie schon erwähnt, stimmen die Angaben darüber in der Literatur nicht vollständig überein. Felix<sup>1)</sup> fand unter 324 Kontrollproben in 7 Proz. Agglutination bei 1:25; dementsprechend scheinen auch Weil und Felix selbst bereits einen Titer von 1:50 als beweisend, von 1:25 als sehr verdächtig anzusehen. Soucek, der 60 Kontrollen untersucht hat, hält ebenfalls die Diagnose bei 1:50 für sicher, bei 1:25 für wahrscheinlich. Auch Kolle und Schloßberger sahen unter 100 Kontrollen niemals Agglutination bei 1:50, ebenso Schürer und Stern, die bei 60 Kontrolluntersuchungen 4mal Agglutination bei 1:25 beobachteten. Fuchs dagegen fand unter 81 Kontrollseren 9, die bei 1:25, und 4, die bei 1:50 agglutinierten; Dietrich sah unter 100 Kontrollfällen 10mal Agglutination bei 1:25, 1mal bei 1:50, niemals in höherer Verdünnung.

Ich selbst habe insgesamt 336 Kontrollsera untersucht. Sie stammten zum kleinsten Teil von Gesunden, zumeist aber von Kranken, und zwar von Fiebernden. Darunter fanden sich Fälle von fast allen Krankheiten, die irgendwie differentialdiagnostisch in Betracht kommen können, insbesondere von Typhus, ferner von Paratyphus B, Scharlach, Masern, Rückfallfieber, Malaria, Lues, Meningitis epidemica, Morbus maculosus Werlhofii, Ruhr und anderen. Leider hatte ich nur wenig Gelegenheit, Fälle von Fünftagefieber zu untersuchen, deren Verhalten praktisch von Bedeutung sein könnte.

Von den 336 Kontrollen zeigten 210 in der Verdünnung von 1:25 keine Agglutination = 62,5 Proz. Bei 1:25 positiv, 1:50 aber negativ waren 93. Von den verbleibenden 33 Proben ergaben 25 deutliche Agglutination bei 1:50, aber keine Spur bei 1:100, 4mal war die Agglutination bei 1:100 schwach, während in 4 Fällen bei 1:100 noch deutliche Agglutination vorhanden war. In allen diesen 8 Fällen war die Agglutination bei 1:100 feinkörnig, in 7 davon war sie es auch bei 1:50 und 1:25, in einem aber war sie bei 1:50 noch grobflockig, während bei 1:25 auch größere Brocken und Fetzen gebildet waren. Außer in diesem Falle habe ich grobflockige Agglutination nur noch bei 5 Kontrollseren gesehen, aber nur in der Verdünnung von 1:25. In 2 von diesen 5 Fällen war die Agglutination bei 1:50 völlig negativ, in den anderen 3 deutlich, aber feinkörnig. Bei den 6 untersuchten Fällen von Fünftagefieber fiel die Reaktion 4mal völlig negativ aus (1:25—), 1mal war schwache Agglutination bei 1:25 vorhanden. 1mal war sie bei 1:25 und 1:50 kräftig, bei 1:100 deutlich, bei 1:200 negativ.

Eine Sonderstellung unter den gesunden Kontrollpersonen nehmen einige Ansteckungsverdächtige ein (Familienmitglieder von Fleckfieberkranken), die klinisch dauernd gesund blieben. Die Mehrzahl agglutinierte gar nicht; einer zeigte bei 1:25 und 1:50 kräftige grobflockige Agglutination, bei 1:100 war sie feinkörnig und schwach, aber noch sicher. Ob hier einer der ja auch sonst vorkommenden normalen Fälle

1) Felix. Zur Serodiagnostik des Fleckfiebers. (Wien. klin. Wochenschr. 1917. No. 28. [Refer.])



mit verhältnismäßig hohem Agglutinationstiter vorlag, oder ob darin die Einwirkung einer latenten Infektion zu sehen war, muß dahingestellt bleiben.

Im übrigen geht aus meinen Kontrolluntersuchungen hervor, daß eine positive Reaktion bei 1:25 so häufig ist, daß sie noch nicht einmal als verdächtig angesehen werden kann. Aber gerade hier wird man unterscheiden müssen, ob eine grobflockige Agglutination eintritt, mit größeren Brocken und Fetzen, oder nur eine feinkörnige. Die erstere dürfte stets als verdächtig anzusehen sein, von 1:100 ab als sicher positiv, während die feinkörnige erst in höheren Verdünnungen beweisend wäre. Gewöhnlich wird, wie erwähnt, beides Hand in Hand gehen.

Für sicher positiv halte ich die Reaktion also nur dann, wenn die Agglutination mindestens bis 1:200 reicht, wobei sie mindestens bei 1:25, noch besser auch bei 1:50 grobflockig sein muß.

Charakteristisch ist auch die Schnelligkeit im Eintritt der Reaktion. In vielen positiven Fällen, fast in allen mit höherem Titer, tritt bei 1:25, häufig auch bei 1:50, und gelegentlich noch in höherer Verdünnung, eine feinkörnige, aber unverkennbare Agglutination gleich beim Verreiben oder nach wenigen Sekunden auf. Manchmal wird sie auch bereits grobflockig, noch bevor die ganze Reihe angesetzt und in den Brutschrank gebracht ist. Sonst bilden sich bei Brutschranktemperatur schon nach wenigen Minuten bis 1:100, manchmal auch darüber hinaus, die groben Flocken. Etwas Ähnliches habe ich bei den Kontrollen niemals gesehen. Wenn überhaupt, trat bei diesen die Agglutination, sowohl die feinkörnige als die grobflockige, erst nach mehrstündigem Aufenthalt im Brutschrank ein, oder auch erst nach darauf folgendem Stehen in der Kälte.

Die positive Diagnose kann also unter Umständen bereits nach wenigen Minuten mit Sicherheit gestellt werden, was praktisch offenbar von großer Bedeutung ist. Da jedoch in einem Teil der positiven Fälle der Eintritt der Reaktion sich verzögert, so soll die endgültige Beurteilung frühestens nach 4-stündigem Aufenthalt im Brutschrank erfolgen. Stehen die Proben dann noch einige Zeit in der Kälte, dann geht die Agglutination noch weiter und wird noch kräftiger, wie wir es ja vom Typhus her kennen; allerdings sind die Unterschiede nicht mehr groß.

Für die Frage, ob nicht nur der positive, sondern auch der negative Ausfall der Reaktion Beweiskraft hat, ob also ein dauernd negativer Ausfall die Diagnose Fleckfieber ausschließt, sind die Zahlen der Tabellen 1 (für Kranke) und 2 (für Genesene) maßgebend.

Danach muß ich für die Kranken auch diese Frage bejahen. Trotzdem meine Anforderungen an eine positive Diagnose gegenüber denen anderer Beurteiler nicht unwesentlich gesteigert sind, habe ich unter den 148 untersuchten Krankheitsfällen keinen einzigen zu verzeichnen, in dem die Reaktion versagt hätte. Allerdings war nur in 112 Fällen, d. h. in 76 Proz., bereits die erste Untersuchung positiv; in den anderen Fällen führte zumeist die zweite zum Ziel, die allerdings in einem Falle (No. 20), erst nach der Entfieberung vorgenommen wurde. Nur ausnahmsweise wurde eine dritte Untersuchung notwendig.

Das führt uns zu der Frage, in welchem Zeitpunkt der Erkrankung die Reaktion positiv zu werden pflegt. In dieser Beziehung dürften sehr große Schwankungen vorkommen, die eine Gesetzmäßigkeit



nicht erkennen lassen. Am häufigsten wird angegeben, daß die Reaktion zwischen dem 4. und 6. Krankheitstage positiv wird. Schürer und Stern sahen den frühesten positiven Ausfall am 5. Tage, und am 2 bis 4. Tage selbst bei 1:25 keine Spur von Agglutination; Kolle und Schloßberger aber hatten unter 25 Fällen, die vor dem 4. Krankheitstage untersucht wurden, bereits 18 positive = 72 Proz.; Felix sah positiven Ausfall 2mal am 2., 2mal am 3., 8mal am 4., 3mal am 6., 1mal am 7. Krankheitstage. Nach Reichenstein und Silbiger ist die Reaktion am Ende der 1. Woche stets bereits vorhanden, wobei allerdings die Werte von 1:25 und 1:50 mitgerechnet sind.

Meine eigenen Erfahrungen sind in dieser Beziehung etwas ungünstiger, wie ja bei den strengeren Anforderungen nicht anders zu erwarten. Nach dem oben festgelegten Grundsatz kann man die Fälle 24, 65, 73, 74, 98, 107, 122, 124 bei der ersten Untersuchung noch nicht als positiv bezeichnen. Es waren also 2 Untersuchungen am 1. und 6 am 2. Tage negativ, zum Teil aber doch bereits recht verdächtig. Am 3. Krankheitstage war ein Teil der Fälle bereits sicher positiv (8 von 14 = 57 Proz.), ebenso am 4. und 5. Es ist also in vielen Fällen eine sichere Frühdiagnose möglich. In anderen aber ist die Reaktion erst später positiv geworden. Am 7. und 8. Tage sind noch 24 und 22 Proz. unsichere Resultate zu verzeichnen, und No. 7 ist noch am 9. Tage nicht sicher positiv, allerdings als einziger von 11, die am 9. Tage zum ersten Male untersucht wurden (= 9 Proz.). Vom 10. Tage ab sind alle Untersuchungen sicher positiv ausgefallen. Rechnet man, was zweifellos das Gebotene ist, zu den positiven Ergebnissen die positiven der früheren Tage, zu den negativen die negativen der späteren Tage hinzu, und berechnet dann das Verhältnis, so erhält man wohl am besten ein zutreffendes Bild von der zunehmenden Häufigkeit des positiven Ausfalles: Sie beträgt am 1. und 2. Tage 0 Proz., am 3. 20 Proz., am 4. 40,5 Proz., am 5. 54 Proz., am 6. 66 Proz., am 7. 86 Proz., am 8. 95 Proz., am 9. 99 Proz., vom 10. Krankheitstage ab 100 Proz.

Natürlich würde ein großer Teil der Spätreaktionen bereits zu einem früheren Zeitpunkt positiv gewesen sein, wenn ich nur dieselben Anforderungen an eine positive Diagnose gestellt hätte, wie die Mehrzahl der Beurteiler.

Für die praktische Bewertung der Reaktion ist es übrigens von geringer Bedeutung, ob sie bereits in den ersten Krankheitstagen positiv wird oder nicht. Denn nur ausnahmsweise kommen die Kranken bereits in den ersten Tagen in ärztliche Behandlung und Untersuchung. Für die Praxis kommt es vielmehr lediglich darauf an, wie oft bereits die erste Untersuchung positiv ist, ohne Rücksicht auf den Krankheitstag. Ich habe bereits erwähnt, daß 76 Proz. der untersuchten Fälle beim ersten Male sicher positiv waren.

Vergleichen wir in dieser Hinsicht die Weil-Felixsche Reaktion mit der Widal'schen Reaktion beim Typhus, so sehen wir eine deutliche Ueberlegenheit des Weil-Felix. Bei Untersuchungen im Laboratorium des Seuchengenesungsheims C., über die Klemperer, Rosenthal und ich<sup>1)</sup> berichtet haben, konnten von 29 sicheren Typhusfällen nur 11 = 38 Proz. durch die erste Untersuchung mit Sicherheit erkannt werden, während in den anderen 18 = 62 Proz. erst die Wieder-

1) Klemperer, Oettinger und Rosenthal, Zur Diagnostik und Therapie des Typhus im Felde. (Therap. der Gegenwart. 1915. Heft 5.)

holung zum Ziele führte. Bei der Weil-Felixschen Reaktion war also das Verhältnis gerade umgekehrt.

Wie der Zeitpunkt des ersten Auftretens, ist auch der Wert des erreichten Höchsttiters sehr verschieden, ohne daß sich Gründe dafür angeben oder Schlüsse, etwa prognostischer Art, daraus ziehen ließen. Soucek meint zwar, in Uebereinstimmung mit Weil, daß ein später Eintritt und ein niedriger Endtiter vorwiegend bei klinisch schweren Fällen zu finden seien, die nur schwer in ihrem Organismus Antistoffe produzieren. Ähnliches ist ja auch für die Typhusagglutination behauptet worden. Mein Material hat etwas derartiges nicht erkennen lassen. Ich sah leichte Fälle mit niedrigem Titer und schwere Fälle mit hohem, und umgekehrt. Einer der höchsten Werte (1:50000) wurde mit Leichenblut erzielt (No. 107)! Sehr häufig sind die erreichten Werte ganz außerordentlich hoch; ich verweise nur auf Tabelle 1, No. 9, 79, 107 und Tabelle 2, No. 60, 67, 99, alle mit einem Titer von über 1:25000.

Ebensowenig, wie für das erste Auftreten, läßt sich für den Zeitpunkt des Verschwindens der Reaktion eine Gesetzmäßigkeit feststellen. Während in einem Teil der Fälle der Titer rasch sinkt, und die Reaktion sogar völlig negativ wird (z. B. Tabelle 2, No. 1, 59) bleibt in anderen, und zwar der Mehrzahl, ein verhältnismäßig hoher Wert längere Zeit bestehen. Ausnahmsweise findet auch noch eine Erhöhung des Titers in der Rekonvaleszenz statt.

In der 1. Woche der Genesung waren nach Tabelle 2 von 37 Untersuchten 35 sicher positiv, gleich 95 Proz., in der 2. Woche 33 von 41, gleich 80 Proz., in der 3. Woche 22 von 27, gleich 81 Proz., in der 4. Woche 3 von 4. Auch im 2. Monat waren noch 12 von 19 Untersuchungen positiv, gleich 63 Proz., wobei zum Teil nach 6 und 8 Wochen noch recht hohe Werte vorkamen (Tabelle 2, No. 65 und 99). No. 99 war auch nach 10 Wochen kräftig positiv. Sonst fielen spätere Untersuchungen sämtlich negativ aus. Das ist aber nicht etwa so zu verstehen, daß bei ihnen nach 2 Monaten die Agglutinine vollständig geschwunden wären. Vielmehr fanden sich Werte bis 1:100 auch nach 11 und 13 Wochen. Sie erreichten nur in dieser Zeit keine beweisende Höhe mehr.

Im ganzen konnten innerhalb der ersten 4 Wochen nach der Entfieberung 93 von 100 Genesenen mit Sicherheit diagnostiziert werden, = 85 Proz. Auch wenn man, was wohl richtiger ist, die 6 am 1. Tage nach der Entfieberung untersuchten, die sämtlich positiv waren, hierbei unberücksichtigt läßt, bleibt das Verhältnis der positiven Befunde sehr günstig, gleich 84 Proz. Vergleichen wir damit wieder das Verhalten der Widalschen Reaktion beim Typhus. Bei den erwähnten Untersuchungen in C. konnten von 38 Genesenen nur noch 16, gleich 42 Proz., mit Sicherheit diagnostiziert werden. Das Prozentverhältnis ist also beim Fleckfieber weitaus günstiger. Dennoch ergibt sich aus den Zahlen der Tabelle 2 ohne weiteres, daß bei Genesenen aus dem negativen Ausfall der Reaktion ein sicherer Schluß nicht gezogen werden kann, auch nicht in den ersten Tagen der Entfieberung.

Im ganzen verläuft nach dem Gesagten die Agglutinationskurve des Fleckfiebers ganz ähnlich wie die des Typhus. Andere glauben hier einen Gegensatz festgestellt zu haben. Aus dem raschen Absinken des

Agglutinationstiters in der Genesung haben Paneth und Schwartz<sup>1)</sup>, nach den Angaben von Reichenstein und Silbiger, den Schluß gezogen, daß die „Fleckfieberagglutination“ nicht im Sinne einer spezifischen Immunitätsreaktion verläuft. Sie bringen sie in Gegensatz zur Widal'schen Reaktion, bei der die Höchstwerte der Agglutination erst in der späteren Rekonvaleszenz vorkämen und die Agglutination länger bestehen bleiben soll.

Reichenstein und Silbiger sind dieser Ansicht schon entgegengetreten, und ich kann ihre Angaben vollkommen bestätigen und ergänzen. Ich habe bei den oben erwähnten 38 Typhusrekonvaleszenten nur 2mal ein deutliches Steigen des Titors in der Genesung feststellen können. Ausnahmsweise kommt das aber auch beim Fleckfieber vor, wie bei No. 2 und 35 der Tabelle 2, die auch erst in der Genesung den Höchstwert erreichten. Im allgemeinen sinkt auch der Typhus-Widal sehr rasch von seinem Höchstwert ab. Klemperer, Rosenthal und ich haben darüber einige Zahlen mitgeteilt. Da ich seither bei Klinikern und Bakteriologen vielfach einem gewissen Erstaunen begegnete, wenn ich darauf hinwies, daß ein rasches Absinken des Widal beim Typhus nicht etwa ausnahmsweise vorkommt, sondern die Regel ist, möchte ich die Zahlen hier wiedergeben. Es sank der Agglutinationstiter 1mal in 5 und 1mal in 7 Tagen von 1:800 auf 1:200, in einem anderen Falle in 7 Tagen von 1:800 auf 1:100; in 9 Tagen sank er von 1:1600 auf 1:200, in 11 Tagen 1mal von 1:1600 auf 1:400, 2mal von 1:800 auf 1:200, 2mal von 1:800 auf 1:100 und 2mal von 1:400 auf 1:100. Nur einen Fall konnten wir erwähnen, in dem ein höherer Wert, 1:400, 3 Wochen lang bestehen blieb. Niedrigere Werte, 1:50 und 1:100, halten sich allerdings nach älteren Untersuchungen monate-, in vielen Fällen jahrelang, ja manchmal 1—2 Jahrzehnte.

Einen wesentlichen Unterschied im zeitlichen Ablauf der Fleckfieber- und der Typhusagglutination vermag ich also nicht festzustellen. Danach dürften auch etwaige weitergehende Schlußfolgerungen hinfällig sein.

Manche sind dazu übergegangen, anstatt der täglich übergeimpften frischen Kultur Aufschwemmungen zur Agglutination zu benutzen, die durch Erhitzen oder durch Zusätze von antiseptischen Mitteln haltbar gemacht und längere Zeit aufbewahrt sind. Es veranlaßt sie dazu die Besorgnis, — vielleicht auch die Erfahrung —, daß der Stamm bei häufigem Ueberimpfen in seiner Agglutinabilität nachlassen, ja gar sie einbüßen könne [Neuber<sup>2)</sup>, Schürer und Stern].

Im allgemeinen habe ich nicht den Eindruck gehabt, daß der Stamm in seiner Agglutinabilität nachlasse, obwohl er, wie erwähnt, fast täglich von Platte zu Platte übergeimpft wird. Ich kann mein Material zwanglos in 2 Teile sondern, weil das Laboratorium gerade in der Mitte des Berichtsjahres seinen Standort wechselte. In der ersten Hälfte konnten von 63 Kranken 48 bei der ersten Untersuchung mit Sicherheit diagnostiziert werden, also 76,2 Proz., in der zweiten Hälfte von 85 Kranken 64 = 75,3 Proz., also eine überraschende Uebereinstimmung. Ganz ähnlich und wegen der gleichmäßigen Zusammensetzung des Materials noch beweiskräftiger ist das Verhalten der Genesenen: Während in der

1) Paneth u. Schwartz, Agglutinationsstudien bei Fleckfieber. (Arch. f. Hyg. Bd. 86. Heft 2 u. 3 [Refer.])

2) Neuber, Ein Fleckfieberdiagnostikum. (München. med. Wochenschr. 1917. No. 21.)

ersten Hälfte von 41 Rekonvaleszenten der ersten 4 Wochen 34 noch deutlich positiv waren, also 83 Proz., waren es in der zweiten Hälfte 53 von 62, also 85 Proz. Diese Zahlen sprechen durchaus dagegen, daß der Stamm in seiner Agglutinierbarkeit nachgelassen habe. Auch in der Höhe des Endtiters, in der Bildung großer Brocken und Fetzen ist nach Ablauf eines Jahres kein Unterschied wahrnehmbar. Erst in jüngster Zeit ist es einmal vorgekommen, daß die Kultur versagte, und daß daher auf ein älteres Röhrchen zurückgegriffen werden mußte. Ob es sich allerdings in solchen Fällen um eine Abschwächung infolge des häufigen Ueberimpfens handelt, ist mir zweifelhaft. Sie dürften vielmehr die Folge von geringfügigen und unkontrollierbaren Veränderungen des Nährbodens sein, wie Schürer und Stern richtig bemerken. Sie haben beobachtet, „daß die Kultur infolge von geringen Aenderungen in der Beschaffenheit des Nährbodens oder durch andere nicht übersehbare äußere Einflüsse schon nach wenigen Ueberimpfungen viel von ihrer Wachstumsfähigkeit verliert, dann nur kleine Kolonien bildet und mikroskopisch lange Fäden aufweist. Derartig abgeschwächte Kulturen sind sehr schlecht agglutinierbar.“

In diesem atypischen Wachstum schlecht agglutinabler Kulturen liegt auch ein gewisser Schutz gegen die Benutzung „abgeschwächter“ Stämme. Bei einiger Aufmerksamkeit wird eine solche Abschwächung kaum unbemerkt bleiben. Deshalb halte ich auch im allgemeinen die Benutzung von konservierten Aufschwemmungen nicht für geboten. Es läßt sich natürlich nichts dagegen sagen, daß man zur Vorsicht eine solche Aufschwemmung in Bereitschaft hält. Im allgemeinen sind frische Kulturen vorzuziehen, wie ich durch vergleichende Untersuchungen feststellen konnte; ich erhielt mit ihnen höhere Titer und gröbere Flocken.

Fasse ich die praktischen Erfahrungen des ersten Jahres zusammen, so fällt das Urteil überaus günstig aus. Die Weil und Felixsche Reaktion nimmt geradezu eine Sonderstellung ein unter den bakteriologischen und serologischen Untersuchungsverfahren: sie scheint vollkommen fehlerfrei zu arbeiten. Daher hat nicht nur ihr positiver, sondern auch ihr negativer Ausfall volle Beweiskraft.

#### Zusammenfassung.

1) Die Weil-Felixsche Reaktion hat für die Diagnose des Fleckfiebers entscheidende Bedeutung. Ihr positiver Ausfall ist für Fleckfieber beweisend; bleibt sie bei wiederholter Untersuchung während der ganzen Dauer der Erkrankung negativ, so ist Fleckfieber auszuschließen.

2) Als beweisend ist ein Titer von 1:200 anzusehen, wobei die Agglutination mindestens bei 1:25 grobflockig sein muß.

3) Die Reaktion erreicht manchmal schon in den ersten Krankheitstagen beweisende Höhe, häufiger am Ende der 1. Woche, selten erst kurz vor der Entfieberung.

4) Sie schwindet ausnahmsweise bereits wieder in den ersten Tagen nach der Entfieberung, hält sich aber gewöhnlich einige Wochen auf einer Höhe, die während der ersten 4 Wochen der Genesung in mehr als 80 Proz. der Fälle eine sichere Diagnose gestattet. Geringere Werte bleiben Monate, vielleicht Jahre lang bestehen.

5) Eine Abschwächung der Agglutinabilität des Stammes x 19 ist bei täglicher Ueberimpfung während eines Jahres nicht eingetreten.

## II.

Wenn wir uns nun der Frage nach einer Erklärung dieser eigentümlichen Reaktion zuwenden, so müssen wir sie offenbar in Zusammenhang bringen mit der bereits eingangs erwähnten Tatsache, daß eine ganze Reihe von Untersuchern aus dem Körper von Fleckfieberkranken Bakterien der verschiedensten Art gezüchtet haben, die alle vom Fleckfieberserum — mehr oder weniger hoch, aber stets spezifisch — agglutiniert werden.

Mehrere Erklärungen für diese Tatsache sind möglich. Erstens könnte man daran denken — und falls ein Referat über seine Arbeit zutreffend ist, hat Csernel etwas Ähnliches behauptet — daß alle diese anscheinend verschiedenen Mikroorganismen miteinander identisch, wesensgleich seien, vielleicht nur verschiedene Entwicklungsformen eines und desselben Mikroorganismus, eben des Fleckfiebererregers. Wenn das für manche der beschriebenen Keime zutreffen kann, so braucht man doch nur an die Plotzschen streng anaëroben, grampositiven Stäbchen und die Weil-Felixschen *Proteus*-Bacillen zu denken, um eine derartige Vermutung von der Hand zu weisen.

Zweitens wäre an die Möglichkeit zu denken, daß das Fleckfieber gar keine ätiologische Einheit sei, daß es vielmehr nur einen klinischen Sammelbegriff bilde, nur die klinisch ähnliche Erscheinungsform ätiologisch verschiedener Krankheiten, so daß neben zahlreichen bekannten, wie Typhusbazillen, Meningokokken u. a., alle die verschiedenen beschriebenen Keime als Erreger in Betracht kämen. Friedberger<sup>1)</sup> hat auf diese Möglichkeit hingewiesen, zwar von anderen Gesichtspunkten ausgehend, aber doch auch unter Hinweis auf diese verschiedenartigen kulturellen Befunde. Seine Auffassung ist inzwischen scharf bekämpft worden (Fuld), und in der Tat wird sie wohl durch klinische und epidemiologische Beobachtungen, nicht zuletzt durch die Konstanz der Weil-Felixschen Reaktion, einwandfrei widerlegt. Aber man hat Friedberger wohl mißverstanden, wenn man annehmen wollte, daß er diese Vermutung als gesicherte Tatsache hingestellt hätte. Vielmehr wollte er wohl nur die Möglichkeit zur Diskussion stellen. Und daß man berechtigt war, an eine solche Möglichkeit zu denken, ist ja kaum zu bestreiten, angesichts der vielen als Erreger beschriebenen Bakterien, die alle oder fast alle von Fleckfieberserum agglutiniert werden, also ein bisher für untrüglich gehaltenes Kriterium ihrer ätiologischen Bedeutung bieten.

Schließlich gibt es aber noch eine dritte Erklärung, und nach Ausschluß der beiden anderen werden wir von vornherein geneigt sein, sie für die wahrscheinlichste zu halten. Die Anschauung, daß der positive Ausfall der Immunitätsreaktionen die Erregernatur eines Mikroorganismus beweise, gründet sich auf die Annahme, daß die im Blute des Kranken vorhandenen Antikörper, die mit einem bestimmten Keim reagieren, immer nur durch die Anwesenheit des gleichen Keimes im Körper erzeugt sein können, und daß eine Bakterienart nur mit solchen Antikörpern reagiert, die durch ihre Anwesenheit im Körper erzeugt sind. Der Spezifität der Antikörper muß die Spezifität des Antigens entsprechen. Eine Ausnahme von dieser Regel kennen wir aber seit langer

1) Friedberger, Kritische Bemerkungen zur Aetiologie des Fleckfiebers. (Berlin-klin. Wochenschr. 1916. No. 32.)

Zeit in der Gruppen- oder Mitagglutination. In neuerer Zeit nun haben wir eine weitere Ausnahme kennen gelernt. Aus dem Körper besonders von Ruhrkranken, dann aber auch bei Typhus und Cholera, sind Bakterienstämme, besonders häufig *Bacterium coli*, gezüchtet worden, die von den entsprechenden Immunseren, und natürlich auch von den Krankenserren, ebenso agglutiniert werden, wie die andersartigen — in diesem Falle ja wohl bekannten und gut charakterisierten — Krankheitserreger selbst. Solche Bakterienstämme reagieren also mit Antikörpern, die nicht von ihnen oder ihren Artgenossen als Antigenen erzeugt und für sie spezifisch sind, die vielmehr auf ganz andere Bakterienarten spezifisch eingestellt sind. Kuhn und Woitke, Gilde-meister und andere haben diese Erscheinung, die zum Unterschiede von der ebenfalls unspezifischen, aber im Wesen davon durchaus verschiedenen Gruppen- oder Mitagglutination „Paragglutination“ genannt wird, zuerst beschrieben und näher studiert.

Während man früher geneigt war, solche paragglutinablen Bakterienstämme für seltene Ausnahmen zu halten, machen neuere Erfahrungen (Fürst, Flatzek, Messerschmidt u. a.) es wahrscheinlich, daß wir es mit einer weitverbreiteten Erscheinung zu tun haben. Auf ihr Zustandekommen brauchen wir vorläufig nicht näher einzugehen. Nur das sei hervorgehoben, daß die paragglutinablen Bakterienstämme zunächst stets bei den entsprechenden Krankheiten gezüchtet worden sind.

Wenn ein und dasselbe Immunserum, hier also das Serum der Fleckfieberkranken, so mannigfache verschiedene Bakterien, die aber alle aus dem Körper von Fleckfieberkranken stammen, agglutiniert, so wird man es von vornherein für sehr wahrscheinlich halten, daß die Antikörper, die mit diesen verschiedenartigen Keimen reagieren, nicht von ihnen erzeugt, auf sie selbst spezifisch eingestellt sind, sondern daß es die spezifischen Fleckfieberantikörper sind, die auf sie alle in gleicher Weise einwirken, mit anderen Worten: daß eine Paragglutination vorliegt. In der Tat ist bezüglich der Weil-Felixschen Reaktion diese Vermutung bereits mehrfach ausgesprochen worden, und sie hat sich wohl als erster Gedanke jedem aufgedrängt, der sich mit dieser Reaktion beschäftigt hat. Wenn diese Vermutung zuträfe, so läge die immer noch bemerkenswerte Tatsache vor, daß eine so große Zahl von verschiedenartigen Keimen, die nur das gemeinsam haben, daß sie kürzere oder längere Zeit im Körper von Fleckfieberkranken vegetierten, sich als paragglutinabel für Fleckfieberserum erweisen. Danach würde es sich wohl doch um eine Besonderheit des Fleckfiebers handeln, um eine Begünstigung der Entstehung paragglutinabler Bakterienstämme.

Um diese Annahme zu prüfen, habe ich bei einer Anzahl von Fleckfieberkranken aus Blut, Stuhl und Urin eine größere Zahl von Bakterienstämmen, zumeist *Bacterium coli*, gezüchtet und auf ihre Agglutination durch Fleckfieberserum geprüft. Ich ging so vor, daß ich alle Stämme — insgesamt 81 — zunächst mit dem Serum eines Fleckfieberkranken aus einem anderen Fleckfieberherd in der Verdünnung von 1:25 ansetzte und diejenigen, die am kräftigsten agglutiniert wurden, zur weiteren Prüfung auswählte. Auch von diesen fielen im Laufe der Untersuchung noch einige fort, so daß 11 Stämme übrigblieben. Zur weiteren Prüfung wurden ebenfalls Sera von Kranken aus anderen Fleckfieberherden benutzt. Die mit den 11 Bakterienstämmen und 10 Fleckfieberseren erzielten Ergebnisse sind in der Tabelle 3 wiedergegeben.

Tabelle

Bezeichnung des Stammes	Serum			
	a	b	c	d
71 (Coli aus Stuhl)	1:28 deutlich 50 „ 100 schwach 200 —	1:50 kräftig 100 schwach 200 „ 400 —	1:50 kräftig 200 deutlich 400 —	1:25 kräftig 50 schwach 100 —
73 (Coli aus Stuhl)	1:50 deutlich 100 schwach 200 —	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —	1:25 deutlich 200 schwach 400 —	1:25 kräftig 100 deutlich 400 schwach 800 —
36 (Coli aus Stuhl)	1:25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —	1:25 deutlich 200 schwach 400 —	1:25 kräftig 100 deutlich 400 schwach 800 —
24 (Coli aus Stuhl)	1:25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1:50 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	nicht unter- sucht	1:25 deutlich 50 schwach 100 —
25 (Coli aus Stuhl)	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —	1:25 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	1:25 deutlich 50 schwach 100 —	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —
43 (Coli aus Urin)	1:50 deutlich 200 schwach 400 —	1:25 kräftig 50 deutlich 100 schwach 200 —	1:50 kräftig 200 deutlich 400 —	1:50 kräftig 100 deutlich 200 —
77 (Coli aus Urin)	nicht unter- sucht	1:25 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —	1:50 kräftig 200 deutlich 400 —
65 (Kokken aus Urin)	1:50 deutlich 100 schwach 200 —	1:50 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —	1:25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 100 —
21 (Kokken aus Urin)	1:50 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1:25 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	nicht unter- sucht	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —
76 (Kokken, Blut-Galle)	1:50 kräftig 100 deutlich 200 —	1:25 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	1:100 deutlich 200 schwach 400 —	1:50 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —
70 (Stäbchen aus Urin)	1:25 kräftig 100 deutlich 200 —	1:200 deutlich 400 —	1:25 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	1:25 kräftig 50 deutlich 100 —

Unter den Stämmen waren 7 typische Coli-Stämme, 5 aus Stuhl, 2 aus Urin gezüchtet; 3 waren Kokken, davon einer aus Stuhl, einer aus Urin, einer aus dem Blut durch Anreicherung in Bouillon gewonnen; einer war ein aus Urin gezüchtetes Stäbchen von eigentümlich trockenem, schuppenartigem Wachstum. Aus der Tabelle 3 ergibt sich, daß alle

3.

Serum					
e	f	g	h	i	k
1: 25 kräftig 50 deutlich 100 schwach 200 —	1: 50 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1: 100 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	1: 100 kräftig 200 deutlich 400 —	1: 50 deutlich 100 schwach 200 —	1: 25 kräftig 50 deutlich 100 schwach 200 —
1: 100 kräftig 200 deutlich 800 schwach 1600 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1: 50 kräftig 100 deutlich 200 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 —	1: 25 deutlich 100 schwach 200 —	1: 100 deutlich 200 schwach 400 —
1: 100 kräftig 200 deutlich 800 schwach 1600 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1: 50 kräftig 100 deutlich 200 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 —	1: 25 deutlich 100 schwach 200 —	1: 100 deutlich 400 schwach 800 —
1: 25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1: 100 kräftig 400 deutlich 800 schwach 1600 —	1: 200 deutlich 400 schwach 800 —	1: 50 deutlich 100 schwach 200 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 —	1: 50 kräftig 200 deutlich 400 —
1: 25 kräftig 200 deutlich 400 —	1: 50 kräftig 100 deutlich 800 —	1: 25 kräftig 200 deutlich 400 schwach 800 —	1: 25 deutlich 100 schwach 200 —	1: 25 kräftig 50 deutlich 100 —	1: 50 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —
1: 100 kräftig 400 deutlich 800 schwach 1600 —	1: 50 kräftig 400 deutlich 800 —	1: 25 kräftig 50 deutlich 100 schwach 200 —	nicht unter- sucht	nicht unter- sucht	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —
1: 100 kräftig 400 deutlich 800 —	1: 25 kräftig 200 deutlich 400 —	1: 50 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1: 50 kräftig 100 schwach 200 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 —	nicht unter- sucht
1: 50 deutlich 100 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 —	1: 50 kräftig 200 deutlich 400 —	Kultur eingegangen		
1: 25 kräftig 50 deutlich 100 —	1: 200 deutlich 400 schwach 800 —	1: 50 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 schwach 400 —	1: 25 deutlich 100 schwach 200 —
1: 400 deutlich 800 schwach 1600 —	1: 100 deutlich 200 schwach 400 —	nicht unter- sucht	Pseudoagglu- tination	Pseudoagglu- tination	Pseudoagglu- tination
1: 50 deutlich 200 schwach 400 —	1: 50 kräftig 200 schwach 400 —	nicht unter- sucht	1: 100 kräftig 400 deutlich 800 —	1: 50 deutlich 100 schwach 200 —	1: 25 kräftig 100 deutlich 200 —

Stämme von Fleckfieberseren agglutiniert wurden. Die Agglutination ging zumeist nicht sehr hoch: 1:100 und 1:200 waren die häufigsten Endwerte, aber auch 1:400 fand sich nicht selten, und ausnahmsweise ging die Agglutination bis 1:800, während sie andererseits einige Male bereits bei 1:50 ihr Ende erreichte. Stamm 65 wuchs allmählich immer



kümmertlicher, bis er schließlich überhaupt nicht mehr zum Wachstum zu bringen war; die Stämme 76 und 70 waren von Anfang an schwer verreibbar, doch gelang es zunächst stets, durch sorgfältiges Verreiben homogene Aufschwemmungen zu erzielen. Späterhin war das aber bei Stamm 76 nicht mehr möglich; er gab dann auch mit anderen Seren und Kochsalz allein Agglutination, so daß seine Prüfung abgebrochen wurde.

Es fragt sich nun zunächst, ob diese Agglutinationswerte nicht allzu niedrig sind, als daß man ihnen überhaupt irgendwelche Bedeutung beilegen könnte. Den Vergleich mit dem *Proteus* x 19 können sie offenbar nicht aushalten. Es wäre aber ganz falsch, sie lediglich mit diesem zu vergleichen. Bei der Agglutinabilität des x 19 dürfte es sich um eine extreme Ausbildung dieser Eigenschaft handeln, die aber doch kaum wesensverschieden sein dürfte von der der Stämme x 1 und x 2. Diese beiden nun werden keineswegs in höheren Verdünnungen agglutiniert, als die von mir geprüften Coli- und Kokkenstämme. Sowohl nach den Erfahrungen anderer (Soucek), wie nach meinen eigenen, die sich auf über 20 Fleckfieberfälle erstrecken, geht die Agglutination des x 2 manchmal nur bis 1:50, meist bis 1:100, und nur ganz ausnahmsweise über 1:200 hinaus. Ebenso wird nach den Mitteilungen von Popoff der Plotzsche *Bacillus* meist nur bis 1:100 oder 200 agglutiniert. Dasselbe scheint mit den von anderen bei Fleckfieber gezüchteten Stämmen (Rabinowitsch, Goldenstein) der Fall zu sein. Die Agglutination der Coli- und Kokkenstämme ist also ebenso hoch, wie die der meisten anderen bei Fleckfieberkranken gezüchteten Bakterienstämme, einschließlich des *Proteus* x 2.

Bevor wir diesen Befund weiter in Zusammenhang bringen mit der Frage, deren Klärung uns beschäftigt, müssen wir uns zunächst die Frage vorlegen, ob es sich bei der Agglutination unserer Bakterienstämme, namentlich der Coli-Stämme, sicher um Paragglutination gehandelt hat. Diese Frage ist offenbar viel schwieriger zu entscheiden, als bei ruhr-, typhus-, choleraagglutinablen Coli-Stämmen. Denn bei diesen stehen uns zur Prüfung die entsprechenden Immunsere zur Verfügung, die Coli gar nicht, Ruhrbazillen usw. aber bis zu einem bekannten und meist hohen Titer agglutinieren. Beim Fleckfieber dagegen können wir zur Prüfung nur Krankenserum benutzen, die einen bestimmten Fleckfiebertiter überhaupt nicht haben und deren Agglutinationswert für Coli ebenfalls unbekannt ist. Daher genügt es zur Feststellung der Ruhr- usw. -Paragglutination ein einziges Immunsere anzuwenden, beim Fleckfieber aber müssen wir eine größere Zahl von Krankenserum zur Prüfung verwenden. Die Begrenzung dieser Zahl ist offenbar willkürlich. Ich habe mich mit je 10 Seren begnügt, einer Zahl, die manche für überflüssig groß, andere vielleicht für unzulässig gering halten werden. Ich hielt diese Zahl für ausreichend im Hinblick auf das, was wir über die Agglutination von Coli-Bazillen durch menschliche Sera wissen. Darüber liegen allerdings, so weit ich mich erinnere, nur ältere und nicht allzu viele Untersuchungen vor. In erster Linie solche von Pfaunder, der vorzugsweise Kinder berücksichtigte, ferner von R. Stern und dessen Schüler Biberstein.

Danach muß man unterscheiden zwischen Coli-Stämmen, die aus dem Darm, und solchen, die aus Krankheitsherden, z. B. bei Cystitis und ähnlichen, gezüchtet sind, also zwischen dem saprophytischen und dem pathogenen *Bacterium coli*. Ersteres agglutiniert sowohl mit dem

homologen als auch mit fremden Blutseren nur ganz ausnahmsweise, und auch dann nur in hohen Konzentrationen (1:10, 1:20). Aus Krankheitsherden gezüchtete Coli-Stämme dagegen werden noch in hohen Verdünnungen agglutiniert, aber auch nur vom Serum des betreffenden Kranken, nicht aber vom Serum anderer Menschen. Daraus folgt für unsere Frage: Normalerweise enthält das menschliche Serum keine nennenswerten Agglutinine für Coli-Bazillen, sondern nur bei solchen Menschen, bei denen das *B. coli* pathogene Eigenschaften gewonnen hat. Auch das Serum dieser aber agglutiniert nur den eigenen Stamm und nicht beliebige andere Coli-Stämme.

Aber mit diesen Feststellungen wollen wir uns keineswegs zufrieden geben. Wenn wir bezweifeln wollen, daß die Agglutination der Coli-Stämme eine Paragglutination durch Fleckfieberserum sei, dann sind offenbar zwei Möglichkeiten vorhanden. Erstens könnte es sich um Coli-Stämme von allgemein erhöhter Agglutinierbarkeit für menschliche Sera handeln; zweitens könnte das Fleckfieberserum allgemein erhöhte Agglutinationskraft für *Bacterium coli* besitzen. Auch die Coli-Stämme unterliegen bezüglich ihrer Agglutinierbarkeit dem Grundgesetz der Variabilität, der Fluktuation im Sinne von De Vries, und es muß Stämme geben, die vom menschlichen Serum höher agglutiniert werden als die Mehrzahl. Daß unsere Stämme solche abnorm agglutinablen seien, wird man von vornherein nicht ausschließen können, wenngleich eine Häufung von solchen Stämmen gerade bei Fleckfieberkranken sehr seltsam wäre. Aber es war doch notwendig, durch Kontrollversuche diese Möglichkeit auszuschließen. Ich habe daher die 11 Stämme gleichzeitig auch mit 12 Seren von Gesunden und von heberhaft erkrankten, zumeist Ruhrkranken, geprüft. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 4 wiedergegeben.

Wenn auch einzelne Sera einige der Stämme in der Verdünnung von 1:25 agglutiniert haben, so sind doch die Unterschiede gegenüber der Agglutination mit dem Serum von Fleckfieberkranken unverkennbar und sehr erheblich, wie ein Vergleich der Tabellen 3 und 4 zeigt. Unmöglich kann man danach die Agglutination unserer Stämme durch Fleckfiebersera auf eine allgemein erhöhte Agglutinierbarkeit dieser Stämme zurückführen. In demselben Sinne spricht auch die Tatsache, daß die Coli-Stämme bei einer nach etwa 2 Monaten und häufiger Ueberimpfung wiederholten Prüfung mit Fleckfieberseren nur noch schwach und zum Teil gar nicht mehr agglutiniert wurden.

Es bliebe also nur noch die zweite Möglichkeit, daß das Fleckfieberserum *Bacterium coli* im allgemeinen stärker agglutinierte als andere menschliche Sera. In diesem Falle wäre das *Bacterium coli* gewissermaßen als Erreger einer regelmäßigen Mischinfektion aufzufassen: natürlich nicht im klinischen Sinne. Aber ohne Zweifel ist ja bei allen Fleckfieberkranken im Darm *Bacterium coli* vorhanden. Es könnte nun gerade bei ihnen, etwa infolge einer besonderen Durchlässigkeit des Darmes beim Fleckfieber, zur Bildung von Antikörpern gegen *Bacterium coli* kommen. Freilich wird auch diese Annahme durch die erwähnten Untersuchungen über die Agglutination von *Bacterium coli* sehr wenig gestützt. Kommt es doch auch bei Ruhrkranken und bei darmkranken Kindern höchstens zur Agglutininbildung gegenüber dem homologen Coli-Stamm, nicht aber gegenüber fremden Stämmen. Selbst als Erreger von Cystitis u. dgl. bildet, wie erwähnt,

Tabelle 4.

Bezeichnung des Stammes	Serum												Kochsalz- lösung
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
71	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	—
73	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
36	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
24	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	—
25	"	"	"	1:25 —	"	"	"	1:25 —	"	"	"	1:25 —	—
43	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	"	"	"	"	"	"	"	"	—
77	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	"	—
65	"	"	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	1:25 schwach 1:50 —	"	"	Kultur eingegangen			—
21	1:25 schwach 1:50 —	"	"	"	"	1:25 —	1:25 schwach 1:50 —	"	"	1:25 —	1:25 —	1:25 —	—
76	1:25 —	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	"	1:25 —	1:25 schwach 1:50 —	1:25 deutlich 1:50 —	1:25 schwach 1:50 —	Pseudo- agglu- tination	Pseudo- agglu- tination	!Anfangs —, später nicht mehr ver- reibbar
70	1:25 schwach 1:50 —	1:25 schwach 1:50 —	"	1:25 schwach 1:50 —	1:25 —	1:25 schwach 1:50 —	"	1:25 deutlich 1:50 —	1:25 —	1:25 deutlich 1:50 —	1:25 deutlich 1:50 —	1:25 deutlich 1:50 —	—

das *Bacterium coli* keine Agglutinine, die gegen alle Coli-Stämme wirksam wären.

Immerhin mußte auch diese Möglichkeit besonders geprüft werden. Ich habe daher 12 beliebige Coli-Stämme mit je 6 verschiedenen Fleckfieberseren angesetzt. Das Ergebnis gibt die Tabelle 5 wieder.

Tabelle 5.

Bezeichnung des Coli-Stammes	Serum					
	16	7	12	3	5	11
833	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —
VII	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	"	"
VIII	1:25 schwach 1:50 —	"	"	1:25 —	"	1:25 schwach 1:50 —
VI	1:25 —	"	"	"	"	"
I	"	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —	"
II	"	"	"	"	1:25 —	"
IV	"	"	"	"	"	"

Bezeichnung des Coli-Stammes	Serum					
	1	2	4	8	13	15
III	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —
29	1:25 schwach 1:50 —	1:25 deutlich 1:50 —	"	"	"	1:25 schwach 1:50 —
10	1:25 —	1:25 —	"	"	"	1:25 —
845	"	1:25 schwach 1:50 —	"	"	"	"
871	"	1:25 —	"	"	"	"

Daraus geht eindeutig hervor, daß Fleckfieberkranke beliebige Coli-Stämme keineswegs höher agglutinieren, als gesunde Menschen. Wenn also die aus Fleckfieberkranken gezüchteten Coli-Stämme von Fleckfieberseren höher agglutiniert wurden, so kann das mithin nicht auf Coli-Agglutinine zurückzuführen sein, die etwa der Fleckfieberkranke im Gegensatz zum gesunden Menschen besäße.

Dafür kann man aber auch noch einen direkten Beweis erbringen: durch den Castellianischen Versuch. 2 Fleckfiebersera, 425 und 427, die beide den *Proteus* x 19 bis 1:3200 agglutinierten, wurden in der Verdünnung von 1:25 je 3mal hintereinander mit x 19-Bazillen versetzt, wobei auf jeden Kubikzentimeter der Serumverdünnung 2 Oesen *Proteus*-Bazillen kamen. Nach der ersten Absättigung war die Weil-Felixsche Reaktion noch fast ebenso stark; nach der dritten agglutinierten die Sera bei 1:25 nur noch schwach, bei 1:50 in fraglichen Spuren, bei 1:100 gar nicht. Der Castellianische Versuch wurde

mit 2 Coli-Stämmen angestellt. Vor der Absättigung agglutinierte das Serum 425 den Stamm 36 bei 1:25 und 1:50 kräftig, 1:100 deutlich, 1:200 schwach, bei 1:400 nicht mehr. Nach der Absättigung durch *Proteus* x 19 war die Agglutination bei 1:25 völlig negativ. Serum 427 agglutinierte den anderen Stamm vor der Absättigung bei 1:25 kräftig, bei 1:50 und 1:100 deutlich, bei 1:200 nicht mehr; nach der Absättigung bei 1:25 schwach, bei 1:50 nicht mehr.

Durch den Castellanischen Versuch ist zweifelsfrei erwiesen, daß es sich mindestens bei einer der beiden Bakterienarten, also mindestens beim *Bacterium coli*, um eine unspezifische Agglutination handelt. Da eine Verwandtschafts- oder Gruppenagglutination nicht in Frage kommt, weder zwischen dem *Bacterium coli* und dem Weil-Felixschen *Proteus* x 19 noch zwischen dem *Bacterium coli* und dem unbekannten Fleckfiebererreger, kann das nur eine Paragglutination sein. Darüber hinaus scheint er mir allerdings dafür zu sprechen, daß auch die *Proteus*-Agglutination als Paragglutination aufzufassen sei. Der positive Ausfall des Castellanischen Versuchs zeigt, daß die „Rezeptorenapparate“ der beiden Bakterienarten miteinander zum Teil übereinstimmen. Es scheint mir das Zwangloseste zu sein, diese Uebereinstimmung darauf zurückzuführen, daß beide für Fleckfieber-Serum paraggglutinabel sind. Ich gebe aber zu, daß ein bündiger Beweis dafür auch durch den Castellanischen Versuch nicht erbracht ist.

In der Tat sind denn auch gegen die Auffassung der Weil-Felixschen Reaktion als Paragglutination eine Reihe von Bedenken geltend gemacht worden, so daß sie, in der Literatur wenigstens, allgemein verlassen zu sein scheint. Betrachten wir diese Bedenken und die anderen Erklärungsversuche näher, so werden wir hoffen dürfen zu weiterer Einsicht zu kommen.

Das Hauptbedenken gründet sich darauf, daß der *Bacillus* x 19 seine Agglutinabilität für Fleckfieberserum bereits seit geraumer Zeit beibehalten hat, trotz Hunderten von Ueberimpfungen auf künstlichen Nährböden, während die Paragglutination im Sinne von Kuhn und Woithe eine, mehr oder weniger rasch, vergängliche Erscheinung sein soll. Kolle und Schloßberger, sowie Dienes haben diesen Einwand erhoben. Kolle und Schloßberger weisen ferner darauf hin, daß die Agglutination des x 19 durch Fleckfieberserum bis zu Verdünnungen erfolgt, die sonst nur mit den hochwertigsten Immunseris gegenüber den homologen Bakterien beobachtet werden. Aus beiden Gründen erscheint ihnen die Annahme einer Paragglutination unhaltbar.

Beide Bedenken sind nicht gerechtfertigt. Was zunächst die Höhe der Agglutination anlangt, so wird gerade von allen Beobachtern hervorgehoben, daß die paraggglutinablen Stämme bis zum Endtiter der Sera und zum Teil darüber hinaus, also jedenfalls ebenso hoch wie die homologen Stämme agglutiniert werden.

Der erste Einwand aber macht es notwendig, etwas ausführlicher auf das Wesen der Paragglutination einzugehen. Richtig ist zweifellos, daß eine große Zahl, vermutlich die Mehrzahl, von paraggglutinablen Stämmen im Laufe der Zeit ihre Agglutinierbarkeit allmählich wieder einbüßt. Auch meine fleckfieberagglutinablen Coli-Stämme gehörten zu diesen. Es ist aber durchaus irrig, darin ein wesentliches Merkmal der Paragglutination zu sehen, das zur Abgrenzung gegen andere Formen der unspezifischen Agglutination benutzt werden könnte. Aber diese

irriges Anschauen scheint weit verbreitet zu sein. So schreibt Fürst<sup>1)</sup>: „Im Gegensatz zur Gruppenagglutination, unter der wir die Mitbeeinflussbarkeit verwandter, zu einer Gruppe von Bakterien gehörender Stämme durch ein heterologes Serum verstehen, unterscheidet sich die Paragglutination von der ersten dadurch, daß sie meist nicht konstant ist, sondern im Laufe weiterer Generationen bei Züchtung auf künstlichen Nährböden wieder verschwindet.“ In Wahrheit ist das rasche Verschwinden der Paragglutinabilität nur eine akzidentelle Eigenschaft, die mit dem Wesen dieses Vorganges nichts zu tun hat. Der wesentliche Unterschied zwischen Mit- und Paragglutination ist vielmehr folgender: Die Mitagglutination gehört zu den typischen Eigenschaften der betreffenden Bakterienart, sie ist eines ihrer Artmerkmale; die Paragglutination ist eine Abweichung von den typischen Artcharakteren. Es gehört zu den konstanten Artmerkmalen des *Bacillus typhi abdominalis*, vom Paratyphus B-Serum, des Paratyphus B-Bazillus vom Typhusserum agglutiniert zu werden. Es ist ein typisches Merkmal der Kruse-Shiga-Dysenteriebazillen, daß sie bis zu gewisser Höhe von Pseudodysenterieserum, ein typisches Merkmal der Pseudodysenteriebazillen, daß sie vom Kruse-Shiga-Serum agglutiniert werden. Diese Agglutinabilität ist ein Ausdruck der systematischen, vielleicht auch — wie wir wohl vermuten dürfen — einer phylogenetischen Verwandtschaft. Natürlich ist dieses Artmerkmal der Mitagglutinierbarkeit nicht bei allen Stämmen der betreffenden Art gleich gut ausgebildet. Vielmehr unterliegt es ebenfalls der allgemeinen Erscheinung der fluktuierenden Variabilität — ganz ebenso wie die Agglutinierbarkeit durch homologe Sera. Wie diese, kann sie auch einmal einem Stamme ganz fehlen. Aber das ändert nichts an der Tatsache, daß sie ein typisches Artmerkmal ist, das zur vollständigen Beschreibung einer Art ebenso gehört wie das Verhalten zur Gramschen Färbung oder irgendein kulturelles Merkmal.

Im Gegensatz dazu zeigen die paragglutinablen Bakterienstämme mit dieser Eigenschaft eine Abweichung vom normalen Arttypus, und zwar eine erbliche Abweichung. Eine erbliche Abweichung vom normalen Arttypus aber nennen wir Mutation. Wir können daher allgemein sagen: paragglutinable Bakterienstämme stellen Mutationen dar. Gerade im Hinblick auf das rasche Schwinden der Paragglutinabilität wird diese Behauptung vielleicht Widerspruch erfahren. Daher dürften noch einige weitere Bemerkungen notwendig sein. Keinen Widerspruch dürfte die Behauptung finden, daß die paragglutinablen Bakterienstämme in ihren Merkmalen vom Typus ihrer Art abweichen. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß das „normale“, das typische *Bacterium coli commune* weder von Ruhrserum, noch von Typhus- oder Cholera- oder Fleckfieberserum agglutiniert wird. Ohne Zweifel stellt also das paragglutinable *Bacterium coli* eine neue Variation dar, die sich von der Ausgangsart eben durch die Agglutinabilität deutlich unterscheidet.

Es erhebt sich nun die Frage, ob dieser Unterschied lediglich phänotypischer Natur (im Sinne von Johannsen) ist, oder ob er genotypisch bedingt ist. Um rein phänotypische Unterschiede handelt es sich, wenn ihr Vorhandensein an die Einwirkung veränderter Lebens-

1) Fürst, Die bakteriologische Kontrolle bei der Bekämpfung der Ruhr. (München. med. Wochenschr. 1917. No. 21.)

bedingungen geknüpft ist, und wenn sie beim Aufhören dieser Einwirkung wieder verschwinden. Genotypische Unterschiede müssen wir annehmen, wenn sie auch beim Aufhören der äußeren Einwirkungen, denen sie ihre Entstehung verdanken, d. h. unter den normalen Lebensbedingungen, bestehen bleiben, mit anderen Worten, wenn sie erblich fixiert sind. Dürfen wir das nun für die paragglutinablen Bakterienstämme annehmen? Die mangelnde Konstanz spricht scheinbar dagegen, aber auch nur scheinbar. Reichenbach hat bereits betont, daß Bakterienkulturen in dieser Beziehung eine Sonderstellung einnehmen. Da jede Bakterienkultur eine große Anzahl, sagen wir in 24 Stunden 25—50, Generationen umfaßt (bei  $\frac{1}{2}$ —1-stündiger Teilungsfrist), so würde ein Merkmal, das nach 3 Ueberimpfungen wieder verloren geht, immer noch etwa 100 Generationen hindurch festgehalten worden sein. Wenn sonst in der Biologie das Auftreten von Mutationen beschrieben wird, und wenn als Kriterium der Mutation, d. h. der erblichen Fixierung der Variation, betont wird, daß sie auch unter normalen Lebensbedingungen dauernd erhalten bleibt, so müssen wir stets bedenken, daß sich die Beobachtungszeit wohl noch in keinem Falle über so viele Generationen erstreckt hat, wie sie von Bakterienkulturen in wenigen Ueberimpfungen durchlaufen werden. Das älteste Beispiel einer Mutation, das de Vries und Johannsen erwähnten, die Entstehung des schilfblättrigen Schellkrauts, wird von der Ueberlieferung in das Jahr 1590 verlegt, ist wohl aber keineswegs gesichert. Alle sicheren und gut beobachteten Mutationen entstammen der jüngsten Zeit. Wir wissen keineswegs, ob nicht auch andere Mutationen nach Hunderten oder Tausenden von Generationen wieder verloren gehen. Namentlich wenn es sich um „positive“ Mutationen handelt, d. h. um den Gewinn eines neuen Merkmals, wird man das theoretisch keineswegs ausschließen können. Das, was sie zur Mutation macht, ist nicht die absolute Konstanz, sondern die genotypische Bedingtheit. Bei Bakterien nun, als einzelligen Lebewesen, ist ja die scharfe Unterscheidung von phänotypischen und genotypischen Veränderungen, bei der hier gegebenen Identität oder mindestens innigen wechselseitigen Beeinflussung von somatischem Plasma und Keimplasma, zweifellos viel schwieriger als bei höheren Organismen. Jedenfalls aber ist eine Abweichung, die auch beim Wiedereinwirken der gewöhnlichen Lebensbedingungen — in diesem Fall der Züchtung außerhalb des Krankenkörpers — durch Hunderte oder Tausende von Generationen festgehalten wird, als genotypisch bedingt, als erblich fixiert und mithin als Mutation anzusehen, selbst wenn sie späterhin im Laufe der Zeit wieder verloren geht. Offenbar kann man in solchem Falle nicht von einer rein phänotypischen Variation sprechen, aber auch eine Induktion im Sinne von Woltereck kann wohl nicht mehr in Frage kommen. So sind wir durchaus berechtigt, auch die Paragglutination unter die Mutationerscheinungen einzureihen.

Wollten wir uns den Unterschied zwischen Mitagglutination und Paragglutination an einem Gleichnis klarmachen, so könnten wir sagen: das mitagglutinable Bakterium trägt ein Eigenkleid, das mit dem Eigenkleid des spezifisch-agglutinablen Bakteriums zum Teil übereinstimmt, das paragglutinable Bakterium aber ist in ein fremdes Kleid, das des spezifisch-agglutinablen, hineingeschlüpft. Wollen wir aber den Unterschied wissenschaftlich in einen Satz fassen, so würde er lauten: die Mitagglutination ist eine artgemäße, die Paragglutination ist eine artwidrige Reaktion.

Die größere oder geringere Konstanz hat also mit dem Wesen der Paragglutination nichts zu schaffen. Selbst wenn alle anderen paragglutinablen Bakterien durch Ueberimpfen diese Eigenschaft wieder verlieren würden, so könnte uns das nicht hindern, die Weil-Felixsche Reaktion als Paragglutination aufzufassen. Dazu kommt aber noch die praktische Erfahrung, daß auch von ruhr- und choleraagglutinablen Coli-Stämmen bereits eine ganze Anzahl bekannt geworden sind, die jahrelang ihre Agglutinierbarkeit ohne Abschwächung bewahrt haben.

So können wir beiden Einwendungen keinerlei Beweiskraft zugestehen. Das enthebt uns aber nicht der Notwendigkeit, die anderen Möglichkeiten zu prüfen, die zur Erklärung der Reaktion in Frage kommen und von anderen herangezogen worden sind.

Wir können alle möglichen Erklärungen in zwei Gruppen einteilen: entweder ist die Agglutination des *Proteus* x 19 durch Fleckfiebersera proteusspezifisch, oder sie ist fleckfieberspezifisch; d. h.: die Agglutinine des Fleckfieberserums sind entweder spezifisch gegen den *Bacillus Proteus* x 19, oder sie sind spezifisch gegen den Fleckfiebererreger gerichtet.

Im ersten Fall sind wieder zwei Möglichkeiten zu unterscheiden. Die eine ist die, daß der *Proteus* x 19 der Erreger des Fleckfiebers sei. Ich habe bereits erwähnt, daß Weil und Felix selbst das nicht angenommen haben, und auch von anderen dürfte diese Behauptung nicht aufgestellt sein. Mit Recht führen Kolle und Schloßberger gewichtige Gründe dagegen an. Insbesondere verweisen sie darauf, daß im Blut und in den inneren Organen von Fleckfieberkranken und -leichen *Proteus*-Bazillen vom Typus des x 19 nur in einem kleinen Teile der Fälle gefunden worden sind. Wir dürfen hinzufügen: in einem verschwindend kleinen Teile. Schon jahrelang vorher, besonders aber auch nach dem Bekanntwerden der Weil-Felixschen Reaktion sind ja viele Tausende von Blutproben untersucht worden, ohne daß solche Stäbchen gezüchtet wurden. Ich habe ebenfalls eine sehr große Anzahl von Blut- und Urinproben untersucht, erstere zumeist durch Anreicherung von mehreren Kubikzentimetern in Bouillon und Galle, ferner auch Leichenteile von einigen Verstorbenen, ohne daß sich *Proteus*-Bazillen auch nur in einem Falle gefunden hätten. Nun kann man ja keineswegs immer aus dem mangelnden Nachweis eines Keimes schließen, daß er nicht vorhanden ist. Wenn er auf künstlichen Nährböden nur sehr spärlich und langsam wächst, wenn er besonders komplizierter Nährböden bedarf, die womöglich unter den Verhältnissen des Feldlaboratoriums gar nicht genau nach der Vorschrift herzustellen sind, wäre ein solcher Schluß unberechtigt. Deshalb würde ich z. B. darin, daß der Nachweis des Plotzschen *Bacillus* in einem großen Teil der Fälle versagt, keinen Beweis dagegen sehen, daß er der Erreger des Fleckfiebers sei. Aber beim *Proteus* x 19 ist ja von alledem keine Rede. Er wächst auf den gebräuchlichen Nährböden, namentlich in Bouillon und auf Agar, in der üppigsten Weise, und ohne daß er etwa durch fremde Keime überwuchert werden könnte. Wenn er überhaupt in einer untersuchten Probe vorhanden ist, dann kann er dem Nachweis unmöglich entgehen. Also ist auch der umgekehrte Schluß richtig: Wenn er aus einer Blutprobe nicht gezüchtet werden kann, dann ist er auch nicht darin enthalten gewesen.

Immerhin werden manche noch geneigt sein, einige Einwendungen zu machen: Man könnte daran denken, daß er entweder nur zeitweise,



während eines kurzen Krankheitsstadiums, im Blute kreise, oder daß die Zahl der im Blute kreisenden Keime nur gering sei, so daß die Untersuchung kleiner Mengen negativ ausfallen müsse. Ich halte beide Einwendungen nicht für stichhaltig. Die negativen Untersuchungen sind von anderen und mir in allen Stadien der Erkrankungen vorgenommen worden, vom Beginn des Fiebers über die Höhe hinweg bis zur Entfieberung. Ich habe in vielen Fällen Blutmengen untersucht (5—10 ccm), die wohl bei allen bekannten im Blute kreisenden Krankheitserregern, wenn auch nicht in allen, so doch in den meisten Fällen, zum Nachweis ausreichen. In einem Falle habe ich 250—300 ccm Blut, das auf der Fieberhöhe entnommen war, zu Nährböden verarbeitet, d. h. zu Agar und Bouillon zugesetzt: in keinem einzigen der Röhrchen — es waren mehr als 100 — ist *Proteus* gewachsen. Hält man dagegen, daß die geringe Blutmenge, die die Laus beim Saugen aufnimmt, den Krankheitserreger enthält, so muß man den negativen Züchtungsversuchen volle Beweiskraft zusprechen.

Die zweite Möglichkeit wäre die, daß der *Proteus*-Bacillus, wenn auch nicht der Krankheitserreger, so doch ein regelmäßiger Begleiter des Fleckfiebererregers sei, der Erreger einer stets vorhandenen Mischinfektion. Er würde dann also zum Fleckfieber in demselben Verhältnis stehen, wie der *Bacillus suipestifer* zur Schweinepest. Auch in diesem Falle wäre also die Reaktion spezifisch für den *Proteus*-Bacillus, und die praktische Fleckfieberspezifität käme nur dadurch zustande, gewissermaßen vorgetäuscht, daß eben jeder Fall von Fleckfieber mit einer *Proteus*-Infektion verbunden wäre. Diese Ansicht wird von Dienes<sup>1)</sup> vertreten, dem in einer Anzahl von Fleckfieberfällen — in einer früheren Reihe in 30 Proz., später aber viel seltener — die Züchtung aus dem Blute geglückt ist. Ich halte aber seine Angaben nicht für beweiskräftig. Zunächst möchte ich hervorheben, daß ich in einer größeren Zahl von Fällen auch bei genauer Innehaltung des von Dienes angewandten Verfahrens keine *Proteus*-Bazillen züchten konnte. Vor allem aber vermisste ich bei Dienes jede Angabe darüber, wie sich die von ihm gezüchteten *Proteus*-Stämme serologisch verhalten, d. h. ob sie spezifisch von Fleckfieberserum agglutiniert werden. So wie die Mitteilung von Dienes zurzeit vorliegt, kann man nichts weiter daraus entnehmen, als daß es ihm gelungen ist, aus einer Anzahl von faulenden Blutproben *Proteus*-Bazillen zu züchten. Keinesfalls aber beweisen sie, daß *Proteus*-Bazillen vom Typus des Weil-Felixschen zu den regelmäßigen Begleitern des Fleckfiebers gehören.

Meines Erachtens ist diese Annahme unhaltbar. Die mangelnde Konstanz des Nachweises, oder vielmehr das Versagen des Nachweises in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle, spricht mit derselben Kraft, wie gegen die Erregernatur des Keimes, auch dagegen, daß er der Erreger einer regelmäßigen Mischinfektion sei.

Freilich, hier ist ein Einwand denkbar: es ist ja nicht gesagt, daß der Erreger dieser hypothetischen Mischinfektion im Blute kreist, daß also, wie Dietrich ausführt, „unter dem Einfluß der Fleckfiebererkrankung der beim Menschen im Darm vorkommende *Proteus vulgaris* in die Blutbahn tritt, wo er ja von Dienes gefunden wurde“. Man könnte sich auch vorstellen, daß er, ohne in die Blutbahn überzu-

1) Dienes, Das Weil-Felixsche Bakterium. (Deutsche med. Wochenschr. 1917. No. 15.)

treten, vom Darm aus, antigen wirke. Die gleiche Erwägung haben wir ja oben bei der Erklärung der Coli-Agglutination angestellt. Die Fleckfieberspezifität würde dann lediglich in der spezifischen Alteration des Darmes, seiner besonderen Durchlässigkeit beim Fleckfieber liegen, infolge deren diese Darmbewohner agglutinogene Eigenschaften entfalten könnten.

In diesem Gedankengange sind sowohl die Voraussetzungen unzutreffend, als auch die Schlußfolgerungen. Die eine Voraussetzung wäre, daß der *Proteus*-Bacillus in der Tat ein regelmäßig bei jedem Menschen vorkommender Darmbewohner sei, dessen Vorhandensein im einzelnen Fall nicht bewiesen zu werden brauchte, sondern vorausgesetzt werden kann. Ich halte das für eine ganz übertriebene Vorstellung. Bei den oben erwähnten Stuhluntersuchungen bei Fleckfieberkranken habe ich nur 2mal *Proteus*-Bazillen im Stuhl nachweisen können. Beide Stämme, die im Wachstum mit dem x 19 völlig übereinstimmten, wurden weder vom Blutserum des betreffenden Kranken, also vom homologen Serum, noch von dem zahlreicher anderer Fleckfieberkranker agglutiniert — außer gelegentlich in der Verdünnung von 1:25, in der sie auch von normalen Seren beeinflußt wurden. Dieser negative Ausfall des Agglutinationsversuches mit dem homologen Serum spricht eindeutig gegen die zweite Voraussetzung, daß nämlich der saprophytische Darm-*Proteus* bei Fleckfieberkranken agglutinogen wirkte.

Wenn aber selbst diese beiden Voraussetzungen richtig wären, so könnten sie die Weil-Felixsche Reaktion nicht erklären. Denn wäre die Agglutination beim Fleckfieberkranken der agglutinogenen Wirkung seiner saprophytischen Darm-*Proteus*-Bazillen zuzuschreiben, dann müßte sie allgemein gegen *Proteus*-Bazillen gerichtet sein. Das ist sie aber nicht, wie man sich leicht überzeugen kann.

Ich habe 12 beliebige *Proteus*-Stämme mit einer Anzahl von Fleckfieberseren agglutiniert, natürlich mit solchen, die einen hohen Weil-Felix-Titer hatten. Sieben Stämme waren alte Laboratoriumsstämme (aus den Sammlungen der Hygienischen Universitätsinstitute Breslau und Königsberg), 5 waren frisch gezüchtet, und zwar 3 aus Stuhlproben, 2 aus faulendem Material. Zumeist war die Agglutination völlig negativ, auch bei 1:25, in anderen Fällen war bei 1:25 schwache, ausnahmsweise auch deutliche Agglutination vorhanden, einer der Stämme gab mit einem Serum auch noch bei 1:50 deutliche Agglutination. Zweifellos sind Agglutinationsversuche mit Fleckfieberserum an beliebigen *Proteus*-Stämmen von vielen gemacht worden, ohne daß bisher Ergebnisse mitgeteilt wären. Nur bei Popoff finde ich ausdrücklich erwähnt, daß seine Sera, die den Plotzschen Bacillus deutlich agglutinierten, mit *Proteus*-Bazillen keine Agglutination gegeben hätten. Uebrigens wissen wir, und Dietrich hat es in erneuten Versuchen einwandfrei bestätigt, daß *Proteus*-Bazillen selbst in künstlichen Immunisierungsversuchen immer nur Agglutinine gegen den homologen Stamm erzeugen, nicht aber gegen andere *Proteus*-Stämme, auch nicht gegen den Weil-Felixschen x 19.

Damit darf auch die zweite Möglichkeit einer spezifischen *Proteus*-Agglutination als widerlegt gelten. Es gibt aber noch einen direkten Beweis dafür, daß die Weil-Felixsche Reaktion nicht proteus-spezifisch, sondern fleckfieberspezifisch ist. Es ist nämlich möglich, wenn auch anscheinend nicht leicht, bei Meerschweinchen durch Injektion von Fleckfieberblut, das von *Proteus*-Bazillen sicher frei ist,

einen positiven Weil-Felix zu erzielen. Dietrich, sowie Kolie und Schloßberger ist das allerdings nicht gelungen. Dietrich sagt darüber: „Serum von Meerschweinchen, die mit Fleckfiebertivirus (Blut) vorbehandelt waren, agglutinierte niemals.“ Und auch Kolie und Schloßberger bemerken: „Das Blut von Meerschweinchen zeigt nach Fleckfieberinfektion keine Agglutination auf den Bacillus x 19.“ Ich bin in dieser Hinsicht glücklicher gewesen. Ich habe — in einer zu anderen Zwecken durchgeführten Versuchsreihe — Meerschweinchen mit je 1 ccm Fleckfieberblut intraperitoneal gespritzt. Das Blut war einem Kranken auf der Fieberhöhe entnommen und vor der Einspritzung verschieden lange Zeit bei 55° gehalten worden. Von dem unerhitzten Blut wurden gleichzeitig über 250 ccm durch Zusatz zu Bouillon und Agar zu Nährböden verarbeitet, ohne daß Bacillus Proteus daraus wuchs. Es kann also wohl mit einiger Sicherheit behauptet werden, daß das injizierte Blut keine Proteus-Bazillen enthielt. 9 Tage nach der Injektion wurde den Tieren Blut zur Untersuchung entnommen.

Bei 2 von 7 Tieren war die Reaktion deutlich positiv. Drei Sera agglutinierten gar nicht, 1mal trat bei 1:25 schwache Agglutination auf, 1mal bei 1:25 deutliche, bei 1:50 schwache. Zwei Proben aber agglutinierten den x 19 noch bei 1:200 kräftig, wobei in einem Falle bis 1:100, im anderen bei 1:25 und 1:50 die Agglutination ausgesprochen grobflockig war, mit zahlreichen größeren Bröckchen.

Gewiß ist auch in den beiden positiven Fällen die Agglutination nicht besonders hoch, und nicht entfernt so hoch, wie meistens beim Menschen im Verlauf einer Fleckfiebererkrankung. Aber sie ist doch hoch genug, um eine spezifische Beeinflussung in, wie ich meine, eindeutiger Weise hervortreten zu lassen. Besonders bemerkenswert erscheint mir in dieser Beziehung, daß die Agglutination in einigen Verdünnungen charakteristisch grobflockig war. Ich habe übrigens zur Kontrolle noch Blutproben von 15 normalen Meerschweinchen untersucht: davon zeigten 13 keine Agglutination, 2 schwache, feinflockige Agglutination bei 1:25. Ebenso wurden gewöhnliche Proteus-Stämme von normalen Meerschweinchen nicht agglutiniert. Ein Versuch, den Titer bei meinen Tieren höher zu treiben, ist leider gescheitert. Bei einer erneuten Injektion, die nach dem Versuchsplan mit unerhitztem Blut vorgenommen wurde, erlagen sämtliche Tiere in 24 Stunden einer Infektion mit einem Stäbchen aus der Gruppe der Friedländer-Bazillen.

Zweifellos kann man also durch die Injektion von Fleckfiebertivirus nur selten dem Blutserum agglutinierende Wirkung gegen den x 19 verleihen, und der erreichte Titer ist nur niedrig. Beides ist ja aber fast selbstverständlich, wenn man die Geringfügigkeit des durch die Injektion von 1—2 ccm Fleckfieberblut gesetzten Reizes bedenkt. Wie sollte man da die Bildung von Antikörpern in erheblicher Stärke erwarten können! Aber hier liegt einer der Fälle vor, wo ein einziger positiver Befund mehr beweist, als selbst zahlreiche negative. Er beweist unwiderleglich, daß der Proteus x 19 mit Antikörpern reagiert, die nicht durch Proteus-Antigen, sondern durch Fleckfieberantigen erzeugt sind, daß also die Reaktion nicht proteusspezifisch, sondern fleckfieberspezifisch ist.

Wenn sie aber als fleckfieberspezifisch erkannt ist, so gibt es wieder nur 2 Möglichkeiten: sie kann entweder artgemäß sein, dann liegt ein Fall von Mitagglutination vor, oder sie kann artwidrig sein, dann

handelt es sich um Paragglutination. Auf die Möglichkeit, daß eine Gruppen- oder Mitagglutination vorliege, haben Kolle und Schloßberger hingewiesen, ohne aber anscheinend dafür einzutreten. In der Tat ist diese Annahme auch unhaltbar. Wir haben zunächst nicht den geringsten Anhaltspunkt dafür, daß zwischen dem Fleckfiebererreger und dem *Bacillus Proteus* eine systematische oder phylogenetische Verwandtschaft bestehe. Aber darauf kommt es gar nicht an. Zwischen dem *Bacterium coli* und dem Ruhrbacillus besteht ja diese Verwandtschaft zweifellos, und doch ist die Agglutination des *Bacterium coli* durch Ruhrserum keine Gruppenagglutination. Der springende Punkt ist vielmehr: es kann keinem Zweifel unterliegen (und wird durch meine Untersuchungen an beliebigen *Proteus*-Stämmen bestätigt), daß die Fähigkeit, durch Fleckfieberserum agglutiniert zu werden, keineswegs zu den Artmerkmalen der *Proteus*-Bazillen gehört. *Proteus*-Stämme, die diese Fähigkeit aufweisen, stellen vielmehr einen neuen Biotypus dar — fleckfieberagglutinabler *Proteus* —, der sich vom typischen *Proteus vulgaris* genau so unterscheidet, wie ein ruhr- oder choleraagglutinabler *Coli*-Stamm vom typischen *Bacterium coli commune*. So wenig wie die Ruhr- oder Choleraagglutination von *Coli*-Bazillen und Kokken, so wenig ist die Fleckfieberagglutination von *Proteus*-Bazillen artgemäß, und eine solche artwidrige Agglutination nennt man Paragglutination.

Kolle und Schloßberger weisen allerdings noch auf eine dritte Möglichkeit der Erklärung hin, die sie der von ihnen abgelehnten Paragglutination entgegensetzen: „Vielleicht entstehen nämlich die spezifischen Agglutinine weder als Gruppenagglutinine, noch unter dem Einfluß der Infektion mit dem *Bacillus x 19*, sondern sind von den Körperzellen unter dem Einfluß der Infektion mit dem noch unbekannten Fleckfiebererreger abgestoßene Rezeptoren mit zufälliger spezifischer Einpassung auf die haptophoren Gruppen des *x 19* . . . . Wir müssen also annehmen, daß die noch unbekannten Fleckfiebererreger . . . . Antikörper bilden, die zufällig, aber spezifisch mit dem *Bacillus x 19* reagieren.“

Eine solche Vermutung läßt sich weder beweisen, noch widerlegen. Das ist aber auch gar nicht nötig. Sie bedeutet nämlich offenbar gar keinen Widerspruch gegen die Behauptung, daß die Weil-Felixsche Reaktion eine Paragglutination sei. Sie behauptet vielmehr dasselbe und stellt nur noch eine neue Hypothese auf, die die Entstehung dieser Paragglutination erklären soll, eine Frage, mit der ich mich bisher gar nicht beschäftigt habe. Ein *Proteus*-Stamm, dessen haptophore Gruppen spezifisch auf die Fleckfieber-Antikörper „eingepaßt“ sind, ist eben, wie immer wieder betont werden muß, ein neuer Biotypus, der vom normalen Biotypus in einem wesentlichen Punkte abweicht; er stellt mithin eine Mutation dar. Wie eine Mutation entstanden ist, ob durch eine bekannte, experimentell zu wiederholende Aenderung der Lebensbedingungen — etwa hier durch Symbiose mit dem pathogenen Keim — oder „spontan“ oder „zufällig“, was doch beides nur heißen kann „aus unbekannter Ursache“, ist für ihre Bewertung und Benennung ganz gleichgültig. Gewiß hat Kuhn die Vermutung ausgesprochen, die Paragglutination käme dadurch zustande, daß „solche Bakterien ihren Rezeptorenapparat der pathogenen Bakterienrasse beim Zusammenleben im Menschenkörper angepaßt haben“. Und wer die Weil-Felixsche Reaktion als Paragglutination auffaßt, wird wohl auch

Pro- teus- Stamm	Gezüchtet auf	Ueber- geimpft	Fleckfieber	
			433	M
IV	Blutbouillon	täglich	1:25 grobflockig kräftig, mit größ. Bröckchen 50 feinflockig deutlich 100 — 200 — " "	1:25 grobflockig kräftig 50 feinflockig deutlich 100 —
IV	Blutagar, Schrägröhrchen	"	1:25 grobflockig kräftig, 50 feinflockig schwach, 100 —	1:25 grobflockig kräftig 50 feinflockig deutlich 100 —
IV	Blutagar, Stich- kultur	"	1:25 grobflockig kräftig mit größ. Bröckchen 50 feinflockig deutlich 100 — 200 — " "	1:25 feinflockig kräftig 50 deutlich 100 — 200 —
IV	Gewöhnlichem Agar (Kontrolle)	.	1:25 —	1:25 feinflockig deutlich 50 —
III	Blutbouillon	täglich	1:25 grobflockig kräftig 50 feinflockig deutlich 100 — 200 schwach 400 —	.
III	Blutagar, Schrägröhrchen	"	1:25 —	1:25 —
III	Blutagar, Stich- kultur	"	1:25 —	.
III	Gewöhnlichem Agar (Kontrolle)	.	1:25 —	1:25 feinflockig deutlich 50 —
IV	Blutagar, Schrägröhrchen	alle 2 Tage	.	1:25 feinflockig deutlich 50 — 100 — " "
IV	Blutagar, Stichkultur	dgl.	.	1:25 grobflockig kräftig 50 feinflockig deutlich 100 — 200 — " "
IV	Gewöhnlichem Agar (Kontrolle)	.	.	1:25 feinflockig deutlich 50 —
III	Blutagar, Schrägröhrchen	alle 2 Tage	.	1:25 feinflockig schwach 50 —
III	Gewöhnlichem Agar (Kontrolle)	.	.	1:25 feinflockig deutlich 50 —
IV	Blutbouillon	nach 1 Woche	.	1:25 grobflockig kräftig 50 feinflockig deutlich 100 — 200 — " "
IV	Blutagar, Schrägröhrchen	dgl.	.	1:25 grobflockig kräftig 50 feinflockig deutlich 100 —

Tabelle 6.

serum	431	444	439	N	Kochsalz- lösung
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
.	.	.	.	.	—
1:25 grobflock. kräftig	1:25 grobflock. kräftig	1:25 grobflock. kräftig	1:25 —	1:25 —	—
50 feinflock. deutlich	50 feinflock. deutlich	50 feinflock. deutlich	—	—	—
100 —	—	—	—	—	—
1:25 grobflock. kräftig	1:25 grobflock. kräftig	1:25 grobflock. kräftig	1:25 —	1:25 feinfl.	—
m. größ. Bröckch.	m. größ. Bröckch.	m. größ. Bröckch.	—	deutl.	—
50 grobflock. kräftig	50 grobflock. kräftig	50 grobflock. kräftig	—	50 —	—
100 feinflock. deutlich	100 feinflock. deutlich	100 feinflock. deutlich	—	—	—
200 —	—	—	—	—	—

Pro- teus- Stamm	Gezüchtet auf	Ueber- impft	Fleckfieber	
			433	M
IV	Blutagar, Stich- kultur	nach 1 Woche	.	1 : 25 —
IV	Gewöhnlichem Agar (Kontrolle)	.	.	1 : 25 feinflockig deutlich 50 —
III	Blutbouillon	nach 1 Woche	.	1 : 25 grobflockig kräftig mit größ. Bröckchen 50 feinflockig deutlich 100 —
III	Blutagar, Schrägröhrchen	dgl.	.	.
III	Blutagar, Stich- kultur	dgl.	.	.
III	Gewöhnlichem Agar (Kontrolle)	.	.	1 : 25 —

in erster Linie daran denken, das Leben im Fleckfieberkranken für die Entstehung dieser Erscheinung verantwortlich zu machen. Aber mit dem Wesen der Paragglutination hat diese Hypothese über ihr Zustandekommen nichts zu tun. Selbst der Umstand, daß Kuhn<sup>1)</sup> durch künstliche Züchtung von paragglutinablen Coli-Stämmen gezeigt hat, daß diese Mutation durch eine bestimmte Aenderung der Lebensbedingungen hervorgerufen werden kann, beweist nichts. Denn das schließt keineswegs aus, daß sie in anderen Fällen „spontan“, d. h. aus unbekannter Ursache entstehe. Messerschmidt<sup>2)</sup> z. B. hat cholera-agglutinable Coli-Stämme nicht nur bei Cholerakranken gezüchtet, sondern auch bei Gesunden, die auch nicht gegen Cholera geimpft waren. Diese Coli-Bazillen hätten also niemals, oder wenigstens nicht nachweislich, Gelegenheit gehabt, ihren „Rezeptorenapparat“ dem der Choleravibrionen „anzupassen“. Mit Recht macht Messerschmidt zwischen diesen Stämmen und den bei Cholerakranken gezüchteten hinsichtlich ihrer Benennung und ihrer Einreihung in die Gruppe der paragglutinablen Bakterien keinerlei Unterschied.

Ich betone also ausdrücklich, daß ich die Annahme von Kolle und Schloßberger über das spontane Vorkommen eines fleckfieber-agglutinablen Proteus-Stammes durchaus nicht für unmöglich halte. Allerdings auch nicht gerade für sehr wahrscheinlich. Natürlich lege ich gar keinen Wert darauf, daß ich unter 12 beliebigen Proteus-Stämmen keinen solchen „zufällig“ paragglutinablen gefunden habe:

1) Kuhn, Die Bedeutung der Paragglutination für die Diagnose des Typhus und der Ruhr. (Med. Klin. 1916. No. 30.)

2) Messerschmidt, Das Vorkommen von mit Choleraserum paragglutinerenden Bazillen. (München med. Wochenschr. 1916. No. 22.)

serum				Kochsalz- lösung
431	444	439	N	
1:25 grobflock. kräftig m. größ. Bröckch. 50 feinflock. deutlich 100 " " 200 —	1:25 grobflock. kräftig 50 —	1:25 feinflock. deutlich 50 " " 100 —	1:25 —	—
1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	—
1:25 grobflock. kräftig 50 feinflock. deutlich 100 —	1:25 —	1:25 feinflock. kräftig 50 deutlich 100 " 200 —	1:25 —	—
1:25 —	1:25 schwach 50 —	1:25 feinflock. deutlich 50 " " 100 " " 200 —	1:25 feinfl. deutl. 50 dgl. 100 —	—
1:25 —	1:25 —	1:25 —	1:25 —	—

selbst eine viel tausendfach größere Anzahl würde wohl noch nichts dagegen besagen. Aber daß diese zufällige Mutation zufällig gerade aus dem Blute eines Fleckfieberkranken gezüchtet worden ist — das wäre doch eine Häufung von Zufälligkeiten, die an unser Vorstellungsvermögen sehr große Anforderungen stellen würde.

Vielmehr sind wir wohl berechtigt, wie für die Entstehung der Ruhrparagglutination, auch für die Entstehung der Fleckfieberparagglutination das Wachstum im Krankenkörper verantwortlich zu machen. Darüber hinaus etwa noch Vorstellungen zu entwickeln, welcher Art die Einwirkung dieses Wachstums im Krankenkörper sein könnte, ist wohl zwecklos.

Ich habe soeben erwähnt, daß Kuhn gewöhnliche Coli-Stämme in ruhrparagglutinable umgezüchtet hat. Es gelang dies dadurch, daß er sie auf Nähragar wachsen ließ, der mit abgetöteten Bouillonkulturen von Ruhrbazillen hergestellt war. Es lag nahe, ähnliche Versuche auch mit Proteus-Bazillen und Fleckfiebernährböden anzustellen. Wären diese Versuche eindeutig positiv ausgefallen, so hätten wir wohl auf alle vorangegangenen Ausführungen verzichten können. Das ist nun allerdings nicht der Fall. Aber ich möchte sagen, die Ansätze zu einem positiven Ausfall sind doch wohl zu erkennen. Deshalb halte ich es für angezeigt, über diese Versuche und ihr Ergebnis hier zu berichten. Leider konnte ich sie aus Mangel an geeigneten Blutspendern nicht weiter fortsetzen. Eine längere Durchführung des Versuches, zu der an anderen Orten Gelegenheit sein könnte, würde vielleicht günstigere Erfolge haben.

Ich habe mir zu diesem Versuch Fleckfiebernährböden hergestellt, indem eine Anzahl von Bouillon- und Agarröhrchen mit defibriniertem Blut eines hochfiebernden Fleckfieberkranken vermischt wurden. Von



2 gewöhnlichen *Proteus*-Stämmen, die vorher mit einer Anzahl von Fleckfieberseren keinerlei Agglutination gegeben hatten, wurde dann je eine Blutbouillon-, Blutschrägar- und Blutagarstichkultur angelegt. In einer Versuchsreihe wurde täglich — und immer auf die gleichen Blutnährböden — weiterverimpft, in einer zweiten nach je 48 Stunden und in einer dritten in einwöchigen Zwischenräumen. Nach 3 Wochen — länger konnte der Versuch nicht durchgeführt werden — wurden die Stämme wieder auf gewöhnlichen Agar übertragen und nach zweimaligem Ueberimpfen auf gewöhnlichem Agar ein Agglutinationsversuch angestellt. Das Ergebnis ist in Tabelle 6 wiedergegeben.

Ich glaube, daß man das Urteil, das ich oben über diese Versuche gefällt habe, gewiß nicht als unvorsichtig bezeichnen wird. In einigen Fällen wurden die beiden *Proteus*-Stämme auch nach dem Wachstum auf Blutnährböden nicht beeinflußt, oder jedenfalls nicht mehr als die Kontrollkulturen. Zur Kontrolle habe ich mit denselben Seren auch die unbeflußten, also dauernd auf gewöhnlichem Agar gezüchteten *Proteus*-Stämme agglutiniert. In anderen Fällen war aber doch eine Beeinflussung vorhanden, die namentlich im Vergleich mit den Kontrollkulturen unverkennbar genannt werden muß. Sie war einigemal bei 1:100 noch deutlich, 1mal auch noch schwach bei 1:200 vorhanden. Besonders auffallend war es mir, daß die Agglutination bei 1:25 mehrfach — 1mal auch bei 1:50 — charakteristisch grobflockig war, wobei selbst größere Brocken nicht fehlten. Gewiß darf man dieses Ergebnis nicht mit der Agglutination des x 19 vergleichen; aber ich habe schon einmal darauf hingewiesen, daß das ein unbilliges Verlangen wäre. Den Ergebnissen mit dem Stamme x 2 stehen die hier erzielten schon recht nahe.

Versuche ich es, die Ausführungen über das Wesen der Weil-Felixschen Reaktion in einigen kurzen Sätzen zu wiederholen, so komme ich zu folgender

### Zusammenfassung.

Die Weil-Felixsche Reaktion kann entweder proteusspezifisch oder fleckfieberspezifisch sein. Im ersteren Falle kommen *Proteus*-Bazillen entweder als die Erreger des Fleckfiebers in Frage — d. h. dann wäre *Proteus*-Spezifität und Fleckfieber-Spezifität identisch —, oder als Erreger einer das Fleckfieber regelmäßig begleitenden Mischinfektion. Beide Möglichkeiten mußten wir ablehnen, und ebenso die dritte, daß der in jedem Darm vorausgesetzte, saprophytisch vegetierende *Proteus* beim Fleckfieberkranken zur Bildung spezifischer *Proteus*-Agglutinine führte. Zudem beweist der positive Ausfall des Weil-Felix bei einigen Meerschweinchen, die mit sicher proteusfreiem Fleckfieberblut geimpft worden sind, daß nur eine fleckfieberspezifische Reaktion vorliegen kann. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Besitz von haptophoren Gruppen, die auf Fleckfieberantikörper eingestellt sind, daß also die Fähigkeit, durch das Blutserum von Fleckfieberkranken agglutiniert zu werden, nicht zu den Artmerkmalen der *Proteus*-Bazillen gehört, daß vielmehr Stämme, die dieses Merkmal besitzen, vom normalen Biotypus ihrer Art abweichen und einen neuen Biotypus darstellen. Da hierin das einzige wesentliche Merkmal der Paragglutination besteht, ist die Weil-Felixsche Reaktion als Paragglutination gekennzeichnet.

Zum Schlusse möchte ich darauf hinweisen, daß es in Anbetracht der hervorragenden praktischen Erfahrungen mit der Weil-Felixschen Reaktion durchaus nicht aussichtslos erscheint, auch bei anderen Krankheiten, deren Erreger unbekannt, oder zur Agglutination ungeeignet sind (wie Scharlach, Pocken, Lues u. a.), paragglutinable Bakterienstämme zu suchen — oder zu züchten, die vielleicht zu diagnostischen Zwecken brauchbar sein könnten. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Morphologie und Biologie des *Bacillus suispestifer*.

[Aus dem bakteriologischen Feldlaboratorium No. 33 der k. u. k. Salubritätskommission der Isonzoarmee (Präses: Stabsarzt Dozent Dr. V. Ruß).]

Von Dr. Alfred Trawiński,

k. k. Ldstm., Untertierarzt und Mitglied der k. u. k. Salubritätskommission 5.

Mit 1 Figur im Text.

Aus einer Schweinepestepidemie haben wir eine Reihe von Schweinepeststämmen gezüchtet, die gewisse Abweichungen vom gewöhnlichen Typus zeigen.

Verschiedene Varietäten des *Bacillus suispestifer* wurden von mehreren Autoren beschrieben. Joest (1) äußert sich diesbezüglich folgendermaßen: „Abgesehen von der Konstanz der Eigenschaften der einzelnen *Suispestifer*-Kulturen zeigen die Schweinepestbakterien aus verschiedenen Seuchenherden bisweilen derartig bemerkenswerte Differenzen, daß man von verschiedenen Varietäten des *B. suispestifer* sprechen kann. Die Eigenschaft, welche die größte Mannigfaltigkeit zeigt, ist die Virulenz. Alle Varietäten des *B. suispestifer* stimmen aber in mehreren Haupteigenschaften und in der Art der von ihnen bei Schweinen erzeugten Krankheit überein. Jede einzelne Varietät hält, soweit die Beobachtungen reichen, ihre besonderen Eigenschaften ziemlich fest, so daß eine Umwandlung einer Varietät in eine andere auf künstlichem Wege bis jetzt nicht beobachtet wurde.“ Die neueren Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann, Haendel und Gildemeister, Uhlenhuth und Hübener u. a. ergaben, daß die der Paratyphusgruppe zugehörigen, resp. der engen Paratyphusgruppe so nahestehenden *Suispestifer*-Bakterien unter gewissen Umständen in kultureller und serologischer Hinsicht Schwankungen unterliegen, welche so weitgehend sein können, daß dadurch der ursprüngliche Artcharakter mancher Kulturen eine vollständige Umwandlung erfahren kann.

Da uns die entsprechende Literatur infolge der Kriegsverhältnisse nicht zur Verfügung steht, beschränken wir uns auf diese kurzen Angaben, aus welchen vor allem hervorgeht, daß der Schweinepestbacillus in verschiedenen Varietäten auftreten kann, die jedoch beim künstlichen Weiterzüchten konstant bleiben, eine Tatsache, die auch mit unseren Untersuchungen übereinstimmt. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß Stämme aus verschiedenen Infektionsherden bald kleinere, bald größere Abweichungen zeigen können.

Das von uns bearbeitete Material umfaßt 42 *Suispestifer*-Stämme, welche wir anlässlich einer Schweinepestepidemie, die im Schweinedepot L. durch Transport der Schweine aus Polen ausgebrochen ist, herausgezüchtet haben. Alle diese Stämme sind von Organen kranker, notgeschlachteter Schweine isoliert. Insgesamt wurden 21 Schweine,

die klinisch typische Erscheinungen der Schweinepest und insbesondere seitens der Lungenorgane zeigten. geschlachtet, sodann sofort obduziert und das von inneren Organen (Blut, pneumonische Lungenherde, Bronchialsekret, Mediastinaldrüsen, Gallenblaseninhalte, Milz, Blaseninhalt, Mesenterialdrüsen, Inhalt vom Magen, Duodenum, Jejunum, Colon, Coecum und Rectum) unter völlig sterilen Kautelen entnommene Material einer bakteriologischen Untersuchung unterzogen, wobei zu bemerken ist, daß Blut und Urin in der Rindergalle stets durch 24 resp. 48 Stunden im Brutschrank angereichert wurden.

Bei 8 Schweinen ergab der bakteriologische Befund ein völlig negatives Resultat. Schweinepestbazillen wurden bei 13 Schweinen aus folgenden Organen gezüchtet: Blut (Gallenanreicherung) 6mal, pneumonische Lungenherde 4mal, Bronchialsekret 2mal, Mediastinaldrüsen 9mal, Galle 8mal, Milz 6mal, Urin 5mal (4mal direkt und 1mal nach Anreicherung in der Rindergalle), Mesenterialdrüsen 2mal. Es ergibt sich daraus, daß der *B. suipestifer* am häufigsten aus den Mediastinaldrüsen und der Galle, sodann aus dem Blut und Milz gezüchtet wurde, in keinem Falle aber aus dem Darmtraktus, obwohl auch da stets nach ihm gefahndet wurde. Diese Tatsache wird durch das pathologisch-anatomische Bild, welches wir in allgemeinen Umrissen geben, gewissermaßen erklärt. Bei der Autopsie wurden bei allen 21 Schweinen vor allem pathologische Veränderungen der Atmungsorgane festgestellt, welche Uebergänge zwischen der katarrhalischen, konfluierenden und croupösen, nekrotisierenden Lobulärpneumonie zeigten. Diese Veränderungen waren besonders in den Spitzenlappen zu sehen, seltener waren beide Lungen gänzlich ergriffen. Bei 7 Kadavern wurde eine fibrinöse Pleuritis, teilweise mit Adhäsionen, und bei 3 eine fibrinöse Pericarditis beobachtet. Die Mediastinaldrüsen waren meist geschwollen und hyperämisch. In 2 Fällen zeigte sich ein ganz leichter Milztumor, in 1 Fall eine akute Nephritis. An dem Verdauungstraktus konnten bei keinem obduzierten Schweine die geringsten lokalen Veränderungen nachgewiesen werden, wohl aber wurde in 2 Fällen eine leichte, stellenweise auftretende Rötung der Magen- und Darmschleimhaut beobachtet. Diese interessante Tatsache wäre vielleicht dadurch zu erklären, daß die Schweine früher geschlachtet wurden, bevor die sekundären Erscheinungen auch im Darmkanal zur Entwicklung kamen. Der Sektionsbefund entbehrt sicher nicht des Interesses, da bei allen obduzierten, notgeschlachteten Schweinen entzündliche Veränderungen der Lunge, die vorwiegend als typisch für Schweineseuche gelten, festgestellt wurden. Ob diese Tatsache vielleicht mit der Spezifität der isolierten Bakterienart in Zusammenhang steht, mag dahingestellt bleiben.

Auf Grund des Sektionsbefundes ist in allen obduzierten Fällen schwer zu entscheiden, ob reine Schweineseuche, oder aber Schweinepest mit Schweineseuchesymptomen vorliegt. Auch bei anderen notgeschlachteten, in demselben Depot erkrankten Schweinen konnte Herr Tierarzt Niederhafner stets die mit den angeführten übereinstimmenden pathologisch-anatomischen Veränderungen feststellen. Maßgebend wäre hier sicher der Filtrierversuch, von dem wir jedoch wegen Mangel von Versuchstieren (Schweinen) Abstand nehmen mußten. Die Diagnose „Schweinepest“ bestätigen jedoch, neben dem Befund der *Suipestifer*-Bazillen, die epidemiologischen Umstände. Während nämlich die Schweineseuchekrankheit sporadisch aufzutreten pflegt, hat die In-

Infektion im erwähnten Schweinedepot in kurzer Zeit eine so große Ausbreitung genommen, daß fast alle Schweine erkrankten und erst eine strenge Kontumazierung, Desinfektion und vorgenommene prophylaktische Impfung, die sich äußerst bewährte, nachkommende Transporte von der Infektion retten konnte.

Sämtliche 42 isolierte *Suipestifer*-Stämme wurden in morphologischer, kultureller, biologischer und agglutinatorischer Hinsicht geprüft, wobei großes Gewicht auf den Kolonietypus gelegt wurde. Betreffs näherer Angaben über das Wesen und die Berücksichtigung des Kolonietypus für die Differenzierung der Bakterienarten der *Coli-Typhus*gruppe sei auf die Arbeit Felsenreichs und Trawińskis (2) hingewiesen.

Außer den angeführten, frisch herausgezüchteten Stämmen wurden gleichzeitig zur Kontrolle 3 *Suipestifer*-Stämme ( $S_1$ — $S_3$ -bezeichn. 1. Schubert, Tromsdorf, 2. Schnürer, 3. Voldagsen, St. Fiebelkorn, Bernhardt), vom Králschen Museum in Wien bezogen, ein *Suipestifer*-Stamm ( $S_4$ ) vom bakteriologischen Institut in Budapest (Vorstand Prof. Dr. H. Preisz) und 1 aus einem Paratyphuskranken frisch herausgezüchteter Paratyphus B-Stamm untersucht. Die vom Králschen Museum stammenden *Suipestifer*-Stämme sind ausführlich in einer unserer Arbeiten (3) beschrieben worden.

Im Nachstehenden sollen die Ergebnisse der bakteriologischen Prüfung sämtlicher hier berücksichtigten Stämme niedergelegt werden.

## I. Morphologisches und kulturelles Verhalten.

Sämtliche hier in Betracht kommenden Stämme stellen sich als kleine, an den Enden abgerundete, mit Geißeln in peritrichaler Anordnung versehene Stäbchen dar, welche eine lebhafte eigene Beweglichkeit zeigen, sich mit wässerigen Anilinfarbstoffen leicht färben und ein gramnegatives Verhalten aufweisen.

Hinsichtlich des allgemeinen kulturellen Verfahrens zeigen sie dasselbe Bild, wie die Vertreter der engen Paratyphus B-Gruppe. So wird im Peptonwasser nach 24-stündiger Bebrütung eine mäßige Trübung beobachtet, in Nährbouillon zu derselben Zeit eine leichte Trübung mit geringem Bodensatz. Die Milch wird nicht zum Gerinnen gebracht; nach ca. 10-tägiger Bebrütung nimmt sie eine transparente, gelbliche Beschaffenheit an, die bei älteren Kulturen immer deutlicher zum Vorschein kommt. Die beimpften Milchröhrchen wurden 28 Tage bei 37° C beobachtet. In der Lackmusmolke konnte schon in den ersten 6 Stunden nach der Beimpfung eine Säuerung wahrgenommen werden, die sich in einer schwachen Rötung der Nährflüssigkeit offenbarte. Nach ca. 20-stündiger Bebrütung trat ein deutlicher Umschlag ins Veilchenblaue auf, der bei weiterem Züchten im Brutschrank (bis 14 Tage lang) unverändert und vielleicht sogar noch intensiver, infolge der stärkeren Konzentration des Farbstoffes durch Verdunstung der Flüssigkeit, geblieben ist. In der Gelatine ist längs des Stichkanals ein üppiges Wachstum der Kultur sichtbar; eine Verflüssigung des Nährbodens findet auch bei 4 Wochen alten Kulturen nicht statt. Auf Schrägagar bilden die Stämme längs des Striches einen grauweißen, glänzenden Belag mit leicht verdickten Rändern.

Auf den Nährböden Barsiekow I (Lackmus-Nutrose-Traubenzuckerlösung), Barsiekow II (Lackmus-Nutrose-Milckzuckerlösung)

Loefflers (Malachitgrün-Milchzucker-Traubenzuckerlösung) und Oldenkop (Neutralrot-Traubenzuckeragar) zeigen diese Stämme ebenfalls dasselbe Verhalten, wie Stämme der engen Paratyphus B-Gruppe (3).

### Der Kolonietypus.

Alle 42 frisch herausgezüchteten Schweinepeststämme wie auch der Kontroll-Schweinepeststamm ( $S_4$ ) zeigen untereinander einen einheitlichen Kolonietypus, der vom Typus der 3 anderen Kontrollstämme sehr stark abweicht und leicht zu differenzieren ist. Die genaue Beschreibung des Kolonietypus der erwähnten 3 Kontrollstämme ( $S_1-S_3$ ) ist aus unserer anderen Arbeit (3) zu entnehmen.

Der Kolonietypus der 42 gezüchteten Stämme, wie auch des Kontrollstammes ( $S_4$ ) ist folgender:

Erster Beobachtungstag (d. h. nach 16-stündiger Bebrütung bei  $37^\circ\text{C}$  und 5-stündigem Belassen der Kultur bei Zimmertemperatur): Die Kolonie besitzt die Form einer abgeflachten Kuppe, deren abgeflachte Partien leicht eingesenkt sind und nur bei sehr gut entwickelten und isolierten Kolonien eine Andeutung zentraler Vertiefung aufweisen. Der schmale, glatte und fein gezähnte Randsaum geht bogenförmig auf die unteren Randpartien der Ansiedlung über. Die Oberfläche ist matt und glänzend. Die Durchsichtigkeit erinnert an diejenige einer Paratyphus B-Kolonie. Mäßig große Granula stehen in ziemlich dichter, gitterförmiger Anordnung nebeneinander und sind gleichmäßig verteilt (Fig. A 1).

Zweiter Beobachtungstag (d. h. nach 24-stündigem Belassen der Ankultur bei Zimmertemperatur): Die Form der Kolonie hat sich wesentlich verändert und gleicht einer recht flachen Kuppe mit einer kleinen, aufgelagerten, ziemlich steilen Kuppe, die in der Mitte eine trichterförmige, gut sichtbare Vertiefung besitzt und von der Grundkuppe durch einen seichten, ringförmigen Graben getrennt ist. Dieser kommt bei nicht gut entwickelten und isolierten Ansiedlungen kaum zum Vorschein. Durch das kräftigere Wuchern der Randpartien ist der Randsaum völlig eingezogen. Die Oberfläche der Grundkuppe ist matt und geht in die rauhe der aufgesetzten Kuppe allmählich über. Im durchfallenden Licht sieht man, wie sich Schleim an der Basis der Kolonie sektorenweise zu bilden beginnt, und zwar in den frei liegenden Partien. Die Schleimproduktion ist zu diesem Termin noch so gering, daß im schräg einfallenden Licht der Schleimwall auch mittels der Lupe nicht wahrnehmbar ist und sich nur als ein saftiger, dicht an die Basis der Kolonie anschließender Randstreifen darstellt. Die Durchsichtigkeit hat ziemlich stark abgenommen und ist viel geringer als diejenige einer Paratyphus B-Kolonie. Die Granulierung, abgesehen von einer mäßigen Verdichtung im Zentrum, ist unverändert; in den peripheren Anteilen der Kolonie, in welchen die Schleimbildung beginnt, sieht man keine Granulierung mehr (Fig. A 2).

Dritter Beobachtungstag (d. h. nach weiterem 24-stündigen Belassen der Ankultur bei Zimmertemperatur): Die unteren Randpartien der Grundkuppe haben sich zu einem schleimigen Wall umgewandelt, während die oberen, wie auch die aufgesetzte Kuppe, fast unverändert geblieben sind. Die zentrale Vertiefung ist flacher, der ringförmige Graben fast völlig verstrichen, so daß der Uebergang der oberen Anteile der Grundkuppe in die aufgesetzte Kuppe fast ein allmählicher ist. Der Schleim-

wall erhebt sich nicht über die Höhe der Grundkuppe, weshalb er makroskopisch im schräg einfallenden Licht kaum sichtbar ist. Er ist recht glatt, etwas feuchtglänzend und macht den Eindruck gut gewölbter Randpartien der Grundkuppe. Erst im durchfallenden Licht läßt sich die schleimige Umwandlung der Randpartien feststellen. Die sektorenartige Schleimbildung ist auch jetzt deutlich sichtbar; der Schleimwall stellt sich nicht als homogene Masse dar, wie bei einer *Paratyphus B*-Kolonie, und ist grob radiär gestreift. Diese Streifung entsteht durch nicht gleichmäßige Schleimbildung. Wir sehen nämlich im durchfallenden Licht, besonders bei mehr gedrängt stehenden Kolonien, nebeneinander liegende, milchig getrübbte, schleimig veränderte und bläuliche, noch nicht schleimig umgewandelte Streifen, was eben auf die ungleichmäßige Schleimumwandlung schließen läßt. Die Durchsichtigkeit der zentralen Teile der Ansiedlung hat ziemlich stark abgenommen, die Granulierung ist dichter als tags zuvor. In der Mitte der Kolonie läßt sich im durchfallenden Licht eine leicht gelbliche Verfärbung wahrnehmen.

Es ist noch zu bemerken, daß die Schleimbildung im allgemeinen gegenüber derjenigen einer *Paratyphus B*-Kolonie nach der Beschreibung von Felsenreich und Trawiński (2) sehr stark herabgesetzt ist, und daß zu diesem Termin nur bei völlig isolierten Kolonien die Randpartien der Grundkuppe im ganzen zu schleimiger Masse umgewandelt sind. Bei gedrängten Ansiedlungen, wie auch bei nicht frei liegenden



Fig. A. Schematische Darstellung: 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter, 4 vierter, 5 fünfter bis sechster Beobachtungstag.

Partien der Kolonie, ist die Schleimbildung auch jetzt nicht oder nur kaum sichtbar (Fig. A 3).

Am vierten Beobachtungstag (d. h. nach weiterem 24-stündigen Belassen der Ankultur bei Zimmertemperatur) ist der Schleimwall stärker ausgebildet und überragt kaum die Höhe der Grundkuppe. Da zu diesem Termin auch die peripheren, oberen Anteile der Grundkuppe schleimig verändert sind, kommt von der ursprünglichen Kolonie des 2. Beobachtungstages nur noch die aufgesetzte Kuppe zum Vorschein, deren zentrale Vertiefung noch weniger deutlich als tags zuvor ist. Die erwähnte radiäre Streifung des Schleimwalles ist spurenweise vorhanden. Von der Basis der aufgesetzten Kuppe gegen die peripheren, oberen, schleimigen, der ursprünglichen Grundkuppe entsprechenden Anteile lassen sich bei Betrachten der Ansiedlung im durchfallenden Licht radiäre Streifen wahrnehmen, die auf eine beginnende schleimige Umwandlung hinweisen, die jedoch später aussetzt (Fig. A 4).

In den folgenden Tagen nimmt die aufgesetzte Kuppe die Form eines flachen, recht opaken, mattglänzenden Kegels an, dessen zentrale Vertiefung kaum wahrnehmbar ist. Der feuchtglänzende Schleimwall ist auch bei 8—10 Tage alten Kolonien nicht so homogen, wie bei einer *Paratyphus B*-Kolonie, außerdem erreicht er nie solche Dimensionen, daß er die Kolonie völlig überdeckt und derselben eine tropfenartige Form gibt, wie es bei der Kolonie des *B. paratyphi B* der Fall ist (Fig. A 5).

Dieser Kolonietypus erinnert bei mehr oberflächlichem Betrachten an den Typus einer Paratyphus B-Kolonie (2). Bei genauerem Studium ergeben sich jedoch beträchtliche Unterschiede, die eine Verwechslung völlig ausschließen lassen. Eine noch stärkere Differenzierung ergibt sich gegenüber den angeführten 3 Suipestifer-Stämmen (kein Schleim-

Tabelle I.

Stamm		Dextrose	Lävulose	Galaktose	Mannose	Saccharose	Laktose	Maltose	Raffinose	Dextrin	Inulin	Stärke	Glycerin	Erythrit	Xylose	Arabinose	Rhamnose	Dulcit	Mannit	Sorbit	Inosit
Frisch herausgezücht. Suipestifer dgl.	1	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	2	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	3	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	4	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	5	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	6	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	7	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	8	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	9	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	10	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	11	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	12	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	13	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	14	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	15	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	16	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	17	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	18	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	19	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	20	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	21	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	22	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	23	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	24	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	25	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	26	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	27	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	28	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	29	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	30	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	31	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	32	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	33	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	34	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	35	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	36	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	37	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	38	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	39	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	40	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	41	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
"	42	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	+	+
B. paratyphi B		+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
B. suipestifer (Schubert-Troms.) S <sub>1</sub>		+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
B. suipestifer (Schnürer) S <sub>2</sub>		+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
B. suipestifer (Voldagsen) S <sub>3</sub>		+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
B. suipestifer von Prof. Preisz S <sub>4</sub>		+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+

Anmerkung: + bedeutet Säure- und Gasbildung, — weder Säure- noch Gasbildung, S Säurebildung.

wall!), auf deren genaue Beschreibung wir am Anfang dieses Abschnittes hingewiesen haben.

## II. Biologisches Verhalten.

Sämtliche hier berücksichtigten Stämme wurden auf ihr Gärungsvermögen gegenüber 20 Kohlehydratarten<sup>1)</sup> in festen (Stichkultur und Plattenausstrich) und teilweise in flüssigen Nährböden (Hetsch) geprüft. Die dabei gewonnenen Resultate sind in der folgenden Tabelle I zusammengefaßt.

Wie aus der Tabelle I zu entnehmen ist, zeigen die von den Schweinen frisch herausgezüchteten 42 Stämme, wie auch der Kontrollstamm  $S_4$ , in biologischer Hinsicht Abweichungen von den *Suispestifer*-Stämmen  $S_1$ — $S_3$  und vom *B. paratyphi* B. Sie lassen Arabinose und Dulcit unverändert und bilden auf Sorbit-Nährboden kräftig Säure, aber kein Gas. Interessant ist, daß die frisch isolierten Stämme nicht imstande sind, Arabinose zu spalten, welche Kohlehydratart auch durch viele paratyphusähnliche Stämme, die wir anläßlich anderer Untersuchungen isoliert haben, stets unter starker Gasbildung gespalten wurde. Arabinose und Dulcit sind also hier die wichtigsten Kohlehydratarten, welche eine Differenzierung unserer Stämme, wie auch des Kontrollstammes  $S_4$ , von den übrigen Vertretern der engen *Paratyphus* B-Gruppe und insbesondere von den 3 erwähnten Stämmen des *B. suispestifer* ermöglichen.

Die hier niedergelegten Ergebnisse der biologischen Eigenschaften der geprüften Kulturen stützen sich auf eine einwandfreie Beobachtung, da die Prüfung mehrmals stets mit demselben Resultat wiederholt wurde. Das Verhalten gegenüber Arabinose und Dulcit wurde auch im flüssigen Nährboden (Hetsch) mit demselben Resultat wie im Stich geprüft.

Die Indolprobe wurde mittels der Ehrlichschen Methode ausgeführt, wozu Kulturen in Tryptophanlösung (Zipfel) verwendet wurden. Bei keinem hier in Betracht kommenden Stamme konnte eine, wenn auch schwach positive Reaktion festgestellt werden, obwohl die Kulturen bis 14 Tage lang im Brutschrank beobachtet wurden. Alle Stämme sind also als keine Indolbildner zu bezeichnen.

## III. Agglutination.

Sämtliche hier berücksichtigten Stämme wurden einer makroskopischen Agglutination unterzogen, die teils mit vom k. k. serotherapeutischen Institut in Wien bezogenem Ziegenimmunserum (*Paratyphus* B-Serum), teils mit von uns hergestellten Kaninchenimmunseris (*Suispestifer*-Schnürer, vom Schwein frisch herausgezüchteter Stamm 13) ausgeführt worden war. Die gewonnenen Resultate sind aus den Tabellen II—IV zu entnehmen.

1) Alle Kohlehydratarten stammen von den Firmen E. Merck, Darmstadt, und C. A. F. Kahlbaum, Berlin (Adlersdorf).



Tabelle II.

Agglutination mit Paratyphus B-Ziegenimmunserum (Titer 1:10 000)

Stamm		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000	1:8000	1:10 000
Frisch herausgezüchteter Suipestifer dgl.	1	+	+	+	+	+	±	±	±	±	.
"	2	+	+	+	+	+	±	±	±	±	.
"	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
"	4	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp
"	5	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp	.
"	6	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp
"	7	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	8	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp
"	9	+	+	+	+	+	±	±	±	±	.
"	10	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	11	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	12	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	13	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	14	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp
"	15	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±
"	16	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±
"	17	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
"	19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
"	20	+	+	+	+	±	±	±	±	±	Sp
"	21	+	+	+	+	±	±	±	±	±	.
"	22	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
"	23	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	24	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±
"	25	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp
"	26	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±
"	27	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp
"	28	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp	.
"	29	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	30	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.	.
"	31	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±
"	32	+	+	+	+	±	±	±	±	.	.
"	33	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	34	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
"	35	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	36	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp	.
"	37	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
"	38	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	39	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.
"	40	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
"	41	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
"	42	+	+	+	+	+	±	±	±	±	.
B. paratyphi B		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. suipestifer (Schubert-Troms.) S <sub>1</sub>		+	+	+	+	+	+	+	+	±	.
B. suipestifer (Schnürer) S <sub>2</sub>		+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
B. suipestifer (Voldagsen) S <sub>3</sub>		+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
B. suipestifer vom Prof. Preisz S <sub>4</sub>		+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß alle 42 frisch herausgezüchteten Stämme durch das spezifische Paratyphus B-Serum recht hoch agglutiniert werden, was ihre Zurechnung zur engen Paratyphus B-Gruppe vollkommen berechtigt.

Anmerkung: + bedeutet eine vollständige, ± unvollständige, Sp Spuren von Agglutination.

**Agglutination mit B. suispestifer (Schnürer) hergestelltem Kaninchenimmunsrum (Titer 1:10 000).**

Stamm		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000	1:8000	1:10000
Frisch herausgezüchteter Suipestifer dgl.	1	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	2	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	3	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	4	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp Sp
"	5	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp Sp
"	6	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp Sp
"	7	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	8	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	9	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	10	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	11	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	12	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	13	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp ±
"	14	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	15	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	16	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	17	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp ±
"	18	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	19	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	20	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	21	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	22	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	23	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	Sp ±
"	24	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	25	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	26	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	27	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	28	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	29	+	+	+	+	+	±	±	±	±	Sp ±
"	30	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	31	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	32	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	33	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp	Sp ±
"	34	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	35	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	36	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	37	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	38	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	39	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	40	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	41	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
"	42	+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
B. paratyphi B		+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
B. suipestifer (Schubert-Troma.) S <sub>1</sub>		+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
B. suipestifer (Schnürer) S <sub>2</sub>		+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
B. suipestifer (Voldagenen) S <sub>3</sub>		+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±
B. suipestifer vom Prof. Preisz S <sub>4</sub>		+	+	+	+	+	+	±	±	±	Sp ±

Das homologe Serum agglutiniert alle von den Schweinen herausgezüchteten Stämme vorwiegend bis zur Titerhöhe. Ebenso werden die Kontrollstämme noch in recht hoher Verdünnung ausgeflockt, am stärksten aber wird Kontrollstamm S<sub>4</sub> beeinflusst. Aus den Agglutinationsversuchen geht deutlich hervor, daß sämtliche von

### Tabelle IV.

**Agglutination mit frisch herausgezüchtetem Suipestifer-Stamm 13  
hergestelltem Kaninchenimmenserum (Titer 1:2000).**

Stamm		1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000	1:8000	1:10000	1:12000
Frisch herausgezüchteter Suipestifer dgl.	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	Sp
"	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	5	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	Sp
"	11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
"	20	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	21	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	22	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	23	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	24	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	25	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	26	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	27	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	28	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	29	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	30	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	31	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	32	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp
"	33	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	34	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	35	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	36	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	37	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	38	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	39	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	40	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	41	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
"	42	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
B. paratyphi B		+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±
B. suipestifer (Schubert-Troms.) S <sub>1</sub>		+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±
B. suipestifer (Schnürer) S <sub>2</sub>		+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±
B. suipestifer (Voldagsen) S <sub>3</sub>		+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±
B. suipestifer vom Prof. Preisz S <sub>4</sub>		+	+	+	+	±	±	±	±	±	±	±

uns isolierten Stämme dem serologischen Verhalten nach dem B. suispestifer recht nahestehen, und die größte Verwandtschaft mit dem Suispestifer-Stamm (S<sub>4</sub>) zeigen.

### Zusammenfassung.

1) Aus den inneren Organen 21 schweinepestkranker, notgeschlachteter Schweine wurden insgesamt 42 Suipestifer-Stämme herausge-

züchtet, die untereinander dasselbe morphologische, biologische und agglutinatorische Verhalten zeigen. Sie sind mit dem vom bakteriologischen Institut in Budapest bezogenen *Suipestifer*-Stamm völlig identisch.

2) Vom typischen *B. suipestifer* ( $S_1$ — $S_3$  bezeichnet: 1. Schubert, Tromsdorf, 2. Schnürer, 3. Voldagsen, St. Fiebelkorn, Bernhardt) unterscheiden sie sich morphologisch durch den Kolonietypus und biologisch durch ihr Unvermögen, Arabinose und Dulcit zu zerlegen. Durch die Agglutinationsreaktion lassen sich die gefundenen Stämme vom typischen *B. suipestifer* nicht trennen.

3) Die sekundären pathologisch-anatomischen Veränderungen bei den untersuchten Tieren weichen vom gewöhnlichen Typus der Schweinepest erheblich ab (ausschließliche Beschränkung auf die Atmungsorgane). Vielleicht läßt sich annehmen, daß dieser abweichende pathologisch-anatomische Befund mit der hier gefundenen Abart des *Bac. suipestifer* im Zusammenhang steht, insofern, als diese Bakterienspezies die sekundäre Ursache der vorherrschenden und früher auftretenden Lungenveränderungen ist, während die Anwesenheit des typischen *B. suipestifer* häufiger mit Veränderungen im Darm einhergeht.

Es wäre auch daran zu denken, daß bei den kranken Tieren deshalb keine Darmveränderungen festgestellt wurden, weil ihre Notschlachtung schon bald nach Auftreten der klinischen Schweinepesterscheinungen vorgenommen worden war, so daß zu diesem Zeitpunkt pathologisch-anatomische Veränderungen des Darmes noch nicht zustande kommen konnten.

Es ist mir noch ein Herzensbedürfnis, meinem Chef, Herrn Stabsarzt Priv.-Doz. Dr. V. Ruß für das meiner Arbeit geschenkte, wohlwollende Interesse meinen aufrichtigen Dank auch an dieser Stelle auszusprechen.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Zit. nach Uhlenhuth u. Haendel, Schweinepest und Schweineseuche. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. 6. 1913.)
- 2) Felsenreich u. Trawiński, Ueber die Bedeutung des Kolonietypus für die Bestimmung und Differenzierung der Bakterienarten der Coli-Typhusgruppe. (Oesterr. San.-Wesen 1916. Wien u. Leipzig [A. Hölder] 1916.)
- 3) Trawiński, Ueber das Vorkommen von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darminhalt gesunder Schweine, zugleich ein Beitrag zur Differenzierung der Bakterien der engen Paratyphus B-Gruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 83. 1916.) (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Kenntnis der durch Erreger der Paratyphus-Gärtner-Gruppe hervorgerufenen Darmerkrankungen (Paracolibazillose) der Kälber.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer zu Königsberg (Direktor: Prof. Dr. Müller).]

Von Oberveterinär Dr. phil. A. Zschlesche,

ehem. Abteilungsvorsteher am Institut, zur Zeit Warschau II, Königl. preuß. Militär-Blutuntersuchungsstelle.

Unter den Krankheiten der Kälber stehen infektiöse Darmerkrankungen an erster Stelle, können sie doch, infolge ihres oft seuchenartigen Verlaufes, ganze Aufzuchten in kürzester Zeit vernichten. Besonders unter hochgezüchteten Rinderbeständen, wie in der Provinz Ostpreußen, stellen solche Krankheiten eine große Kalamität dar, bedeutet ja das Eingehen oft schon eines einzigen Kalbes, das von einem wertvollen Mutter- oder Vatiertiere abstammt, einen ganz erheblichen Verlust für den Besitzer. Es ist daher erklärlich, daß seitens der leitenden Institute dem Studium solcher Krankheiten ganz besondere Aufmerksamkeit zugewendet wird. Dies ist auch im bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer zu Königsberg geschehen.

Aus den in einem Zeitraume von 6 Monaten genanntem Institute zur Untersuchung eingesandten 176 Kälbern, bzw. Kälberorganen konnten in 53 Fällen Bakterien gezüchtet werden, die morphologisch und kulturell der Enteritisgruppe angehörten und als Ursache der tödlich verlaufenden Krankheit angesehen werden mußten.

Das Alter der eingesandten Tiere schwankte zwischen 2—3 Wochen und 4 Monaten. Dem beigefügten Begleitschreiben ließ sich meist entnehmen, daß die Tiere entweder bald nach der Geburt schon gekränkt hatten, in der Ernährung dabei merklich zurückgeblieben waren, einige auch an Durchfällen und leichtem Husten gelitten hatten, oder daß sie bis vor kurzem ganz munter gewesen, dann plötzlich Krankheitserscheinungen gezeigt hatten und meist innerhalb kurzer Zeit, oft in wenigen Stunden, unter zunehmender Aufregung und öfters krampfartigen Anfällen verendet waren.

Schon Wiemann (1) hat diese Erkrankungen in Ostpreußen näher beschrieben und, in Uebereinstimmung mit Jensen (2), als die Paracolibazillose der Kälber bezeichnet und den Erreger als wahrscheinlich der Gärtner-Gruppe zugehörig erkannt<sup>1)</sup>.

Nach Wiemanns Angaben ist das pathologische Bild dieser Paracolibazillose wechselnd, je nachdem, ob es sich um die reine Form der Erkrankung oder um die so häufigen Mischinfektionen (Pneumonien) handelt. Das reine Bild ist das einer Septikämie, bei der es hauptsächlich zu degenerativen Prozessen in Leber, Nieren und dem Herzmuskel kommt.

1) Infolge dieser Stellung zur Gärtner-Gruppe scheint in ätiologischer Hinsicht diese Bezeichnung „Paracolibazillose“ nicht ganz glücklich gewählt.

Die Nieren zeigen die Erscheinungen einer Nephritis haemorrhagica oder parenchymatosa, die Milz ist geschwollen und derb, und zwar ist sie um so voluminöser, je länger die Krankheit bestanden hat, während der Tumor bei rasch verlaufenden Fällen oft ganz fehlt. Blutungen unter der Milzkapsel treten selten auf.

Die Leber ist fast immer vergrößert, ihre Ränder sind stumpf, ihre Farbe ist, je nach dem Blutgehalte, mehr oder weniger gelb, und oft treten disseminiert dunkelrot gefärbte Acini auf, die die Ober- und Schnittfläche fein gefleckt erscheinen lassen. In einzelnen Fällen werden auch an das Sektionsbild bei Mäusen erinnernde, verstreut liegende, scharf und eckig begrenzte, grau oder mehr lehmgelb gefärbte, trockene, nekrotische Herdchen und Herde bis zu Pfenniggröße gesehen.

Auf dem Peritoneum finden sich bisweilen feine, fibrinöse, netzartige Auflagerungen, jedenfalls als Folge einer vorangegangenen Nabelgefäßentzündung, die sehr oft der Ausgangspunkt für diese Krankheit zu sein scheint (Jensen). Die Erscheinungen am Darne sind inkonstant; sie wechseln zwischen Katarrh und Entzündung; meistens fehlen sie ganz.

Auf der Pleura sieht man häufig dicke fibrinöse Schwarten, ohne daß eine Pneumonie vorliegt.

Die Lunge ist bei der reinen Paracoli-Infektion frei von Erscheinungen, oder sie weist atelektatische Lungenpartien ohne erhebliche Entzündungserscheinungen hauptsächlich in ihren vorderen Partien auf.

In der Mehrzahl der von mir untersuchten Fälle wurden die als Erreger geltenden Bakterien aus den Bauchorganen der betreffenden Kälber isoliert, in einigen auch durch Ausstrich aus dem Herzblut. Ich verfuhr in der Weise, daß eine geringe Menge des Untersuchungsmaterials auf je eine Endo-Fuchsin- und Drigalski-Platte ausgestrichen und diese 24 Stunden im Brutofen belassen und dann kontrolliert wurden. Die auf diese Weise gewonnenen Reinkulturen wurden, zwecks Feststellung ihrer biochemischen Eigenschaften, noch auf den übrigen Differentialnährböden (Lackmusmolke, Milch, Loefflers Paratyphusgrünlösung, Malachitgrünagar usw.) geprüft.

In 3 Fällen stammten meine Bakterien auch aus miteingesandten Fleischproben notgeschlachteter Kälber, die vorher Krankheits-symptome gezeigt hatten, die Paracolibazilliose bei ihnen vermuten ließen. Unschwer ließen sich durch Ausstrich und Gußplatten auch die betreffenden Erreger ermitteln.

Bei vergleichender Benutzung verschiedener Stämme von Paratyphus B., Bac. enteritidis Gärtner, typhi murium auf den erwähnten Nährböden konnte ich mich, in Uebereinstimmung mit Wiemann, Hübener (3) u. a., überzeugen, daß konstante kulturelle Unterscheidungsmerkmale zwischen diesen und meinen eigenen Stämmen absolut nicht bestanden.

Dagegen habe ich bei Prüfung einiger später noch näher zu besprechenden Stämme auf dem von R. Müller (4) verwendeten 2-proz. Raffinoseagar in dem einen Falle Knopfbildungen inmitten der Mutterkolonien beobachten können. Müller hat solche Knopfbildungen auf Raffinoseagar bei Paratyphus B gefunden und hält sie für charakteristisch. In meinem Falle handelte es sich um die Untersuchung von Fleisch- und Organproben eines vermutlich ebenfalls an der Paracolibazilliose eingegangenen Kalbes. Im Fleische waren massenhaft Keime enthalten. Die auf Endo- und Drigalski-Platten als rein befundenen Einzelkolonien wurden sofort in der von Müller angegebenen Weise in dünner Aussaat auf den Raffinoseagar ausgestrichen und, nachdem vorher etwas angefeuchtetes Fließpapier in den Deckel der Schale gelegt war, mehrere Tage im Brutofen belassen. Etwa vom 3. Tage ab konnten inmitten eines gleichmäßigen Bakterienrasens kleine Prominenzten erkannt werden, die sich am 5. Tage doch so deutlich entwickelt hatten,

daß sich davon mit der Nadel ganz gut Kulturmateriale abnehmen ließ. Wurde dieses wieder auf Raffinoseagar gestrichen und zur Aussaat gebracht, so konnten diese Knopfbildungen dann nicht mehr weiter beobachtet werden.

Bezüglich des Agglutinationsvermögens seiner Stämme stellte Wiemann laut beigegebenen Tabellen des weiteren fest, daß Gärtner-Serum dieselben fast bis zur Titergrenze agglutinierte, Paratyphusserum sie dagegen gänzlich unbeeinflusst ließ. Auch das mit einem von Jensen entliehenen Paracoli-Stamme hergestellte Serum gab dieselben Reaktionen wie das Gärtner-Serum. Wiemann zieht nach allem den Schluß, daß „aller Wahrscheinlichkeit nach die Paracolibazillose eine einheitliche, durch sehr nahe verwandte Bakterien hervorgerufene Krankheit der Kälber, entsprechend dem Mäusetypus der Mäuse, der Psittacosis der Papageien usw.“ ist.

Zu einem wesentlich anderen Resultate hinsichtlich der Aetiologie der von ihm beschriebenen Erkrankungen kommt Ledschbor (5) nach seinen auf dem Schlachthofe zu Breslau ebenfalls an einer größeren Anzahl von Kälbern ausgeführten Untersuchungen. Der pathologische Befund scheint allerdings derselbe zu sein, wie in den Krankengeschichten bei Wiemann, insofern auch Ledschbor bei seinen Untersuchungen die Miterkrankung der Lungen konstatiert und septische Allgemeinerscheinungen, wie Schwellung der Leber und Milz, verbunden mit Nekrosebildungen, und vor allen Dingen parenchymatöse, mitunter auch hämorrhagische Nephritis, feststellen konnte.

Die durch die bakteriologische Untersuchung erhaltenen Stämme wurden gleichfalls von Ledschbor der Reihe nach mit Paratyphusserum und mit einem Serum, das durch wiederholte Injektion eines der Stämme an Kaninchen erhalten war, geprüft. Dabei zeigte es sich, daß das Paratyphusserum sämtliche Kälberstämme agglutinierte, während ein gleichzeitig mit zur Prüfung verwendeter Gärtner-Stamm durch dieses Serum ohne Beeinflussung blieb. Ebenso agglutinierte umgekehrt das andere Serum die Kälberstämme fast bis zur Titergrenze, schwächer den menschlichen Paratyphusstamm, bewirkte aber ebenfalls bei dem *Bac. enteritidis* Gärtner keine Agglutination.

Auf Grund dieser und anderer Versuchsreihen stellt Ledschbor die von ihm als Erreger angesprochenen Bakterien in die Paratyphusgruppe und bezeichnet sogar seinen Bacillus als *paratyphi* B. Leider hat er bei seinen Versuchen unterlassen, die betreffenden Stämme auf ihr Verhalten gegen Gärtner-Serum zu prüfen.

Bei der großen Menge des mir im Institut zu Königsberg zur Verfügung stehenden Materials war es mir nach den vorgenannten Versuchsergebnissen und den widersprechenden Tatsachen interessant, die als Resultat meiner eigenen Untersuchungen erhaltenen Stämme jedesmal auf ihr agglutinatorisches Verhalten hin einer genauen Nachprüfung zu unterziehen, um dadurch festzustellen, ob tatsächlich für alle hier als Paracolibazillose der Kälber erscheinenden, klinisch und pathologisch-anatomisch deren Merkmale aufweisenden Krankheitsfälle immer die gleichen Bakterien als Erreger zu gelten haben.

Die für meine Versuche notwendigen, verschiedenen Sera stellte ich mir vorher in der Weise her, daß ich Kaninchen in mehrtägigen

Zwischenräumen Gärtner- und Paratyphus B-Bazillen intravenös injizierte. Bei dieser Behandlung verwendete ich zur Erlangung eines polyvalenten Serums mehrere lebende Kulturen. Ich gebrauchte gleichzeitig bei einzelnen Kaninchen verschiedene Gärtner- und Paratyphusstämme, um so bei dieser Prüfung nicht gezwungen zu sein, lediglich mit einem und demselben Serum immer arbeiten zu müssen. Der Titer von 3 so erhaltenen Paratyphusseren war  $\frac{1}{3200}$ ,  $\frac{1}{6000}$  und  $\frac{1}{20000}$ , der zweier Gärtner-Seren  $\frac{1}{10000}$  und  $\frac{1}{20000}$ .

Im Königsberger Institut wurden ferner seit einer Reihe von Jahren Sera zwecks Behandlung eben dieser Kälberkrankheit hergestellt. Es wird dabei so verfahren, daß die betreffenden Pferde zunächst durch Einspritzung eines bereits früher gewonnenen Serums immunisiert werden und man ihnen dann Aufschwemmungen erst abgetöteter, später lebender Kulturen solcher Kälberstämme intravenös injiziert. Solcher an Pferden gewonnener Seren besaß ich 8, von denen die ersten 3 mit früheren Stämmen (von Wiemann) hergestellt waren und den Agglutinationstiter  $\frac{1}{5000}$ ,  $\frac{1}{12000}$  und  $\frac{1}{20000}$  besaßen; die übrigen 5 waren mit 4 meiner eigenen Stämme erzielt, und zwar Serum IV mit Stamm No. 1 und dem Titer  $\frac{1}{10000}$ , Serum V, VI und VII mit Stamm No. 2 und 3 und dem Titer  $\frac{1}{20000}$ ,  $\frac{1}{40000}$  und  $\frac{1}{60000}$ , endlich Serum VIII mit Stamm No. 4 und dem Titer  $\frac{1}{4000}$ . Ich bezeichne diese Sera im folgenden kurz als Kälbersera.

Die Durchprüfung meiner Stämme mit einer größeren Anzahl von Seren empfahl sich mir deshalb, weil ja gerade in der Gärtner-Gruppe häufig Stämme vorkommen, die durch das eine oder andere Serum nicht beeinflusst werden. Zur Agglutination wurden 18 bis höchstens 24 Stunden alte Kulturen verwendet. Die Agglutination selbst geschah in der üblichen Weise. Die Röhrchen wurden zunächst 2 Stunden im Brutofen belassen, dann das erste Mal kontrolliert, sodann bis zum nächsten Tage im Dunkeln aufbewahrt, um jetzt nochmals einer Kontrolle, eventuell unter Zuhilfenahme der Lupe, unterzogen zu werden.

Sämtliche Stämme wurden nun zunächst mit den eigenen und dann, den Angaben Wiemanns folgend, mit den Gärtner-Seren geprüft. Meine dabei erzielten Resultate stellte ich mir in Tabellen zusammen; der Länge wegen habe ich dieselben hier nicht wiedergegeben, sondern werde nur das Bemerkenswerte daraus hervorheben. Es zeigte sich, daß nach Abschluß dieser Untersuchungen 46 meiner Stämme bei Anwendung aller der verschiedenen Kälberseren positive Agglutination ergaben, wobei sich der Ausfall der Reaktion ganz nach dem Titer des benutzten Serums richtete und in den meisten Fällen dessen Grenze erreichte. Die für die Serumherstellung selbst mitverwendeten Paracoli-Stämme 1—4 ergaben das gleiche Resultat mit den Seren I—III. Ganz das nämliche trat ein, wenn ich dann diese Stämme mit den beiden Gärtner-Seren untersuchte; auch hier zeigte sich hohe Agglutination, bei manchen ebenfalls bis zur Titergrenze, so daß ich also bei diesen völlige Uebereinstimmung mit dem Versuchsergebnis von Wiemann konstatieren konnte.

Eine Ausnahme von diesen Befunden machten nun die im folgenden näher beschriebenen Stämme. Den Auszug dieser Resultate füge ich daher hier bei:



Tabelle I.  
Kälberserum von Titer  $\frac{1}{4000}$ .

Kultur	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	$\frac{1}{2560}$	$\frac{1}{5120}$
Stamm 12	+	—	—	—	—	—	—	—	—
" 21	+	±	—	—	—	—	—	—	—
" 23	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" 34	+	±	—	—	—	—	—	—	—
" 39	+	—	—	—	—	—	—	—	—
" 40	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" 41	+	±	—	—	—	—	—	—	—

Es bedeutet: + = positive Reaktion, ± = zweifelhafte Reaktion, — = negative Reaktion.

Um wenigstens höher war die Agglutination bei Verwendung der hochwertigeren Sera, was ja meist bei deren Verwendung zu beobachten und zweifellos hier nur auf stärkere Mitagglutination zurückzuführen ist. Ich gebe auch diese Resultate wieder, die unter Verwendung des Serums mit dem Titer  $\frac{1}{20000}$  gewonnen wurden.

Tabelle II.  
Kälberserum vom Titer  $\frac{1}{20000}$ .

Kultur	Verdünnungen:								
	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	$\frac{1}{2560}$	$\frac{1}{5120}$
Stamm 12	+	±	—	—	—	—	—	—	—
" 21	+	+	+	±	—	—	—	—	—
" 23	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" 34	+	+	+	±	—	—	—	—	—
" 39	+	+	±	—	—	—	—	—	—
" 40	+	+	+	±	—	—	—	—	—
" 41	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Ergibt sich hieraus schon ein besonderes Verhalten der betreffenden Stämme, so mußte dann, analog dem Befunde, der bei den übrigen Stämmen bisher gewonnen wurde, auch bei der Durchprüfung mit dem Gärtner-Serum jetzt ein wesentlich anderes Ergebnis resultieren. Die folgende Tabelle bestätigt die Richtigkeit dieser Annahme. Es ergab:

Tabelle III.  
Gärtner-Serum  $\frac{1}{10000}$ .

Kultur	Verdünnungen:								
	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{160}$	$\frac{1}{320}$	$\frac{1}{640}$	$\frac{1}{1280}$	$\frac{1}{2560}$	$\frac{1}{5120}$
Stamm 12	+	+	±	—	—	—	—	—	—
" 21	+	+	+	+	—	—	—	—	—
" 23	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 34	+	+	+	+	—	—	—	—	—
" 39	+	+	+	—	—	—	—	—	—
" 40	+	+	+	+	±	—	—	—	—
" 41	+	+	+	±	—	—	—	—	—

Während hiernach Stamm 23 mit dem Kälberserum noch eine ganz geringgradige Agglutination ergab, fällt diese mit Gärtner-Serum ganz aus. Ebenso fehlte aber auch jede Spur einer Agglutination bei Prüfung mit Paratyphus- und auch mit Typhusserum. Morphologisch und kulturell ließ sich jedoch auch bei diesem Stamme ein Unterschied gegenüber den anderen aus Kälbern gezüchteten absolut nicht feststellen. Daß aber dieser Stamm tatsächlich nicht in den Rahmen der übrigen gehörte, bewies noch außer der Agglutination im Laboratorium schließlich der Versuch in der Praxis. Wir erzielten mit dem vorher schon erwähnten Kälberserum, bei Vorhandensein echter Paracolibazillose als Schutz-, und bei leichteren Erkrankungsfällen als Heilserum angewendet, in den verseuchten Beständen mitunter geradezu erstaunliche Erfolge; in diesem Falle blieb jede schützende Wirkung aus, versagte die Serumtherapie in dem betreffenden Bestande also vollständig.

Recht interessant scheint mir die Geschichte von Stamm 21 und ebenso die von 39, 40 und 41, auf die ich deshalb etwas ausführlicher eingehen möchte. Auf dem Gute des Besitzers S. gingen in kurzen Zwischenräumen mehrere Kälber im Alter von 3—4 Wochen ein. Nach den Krankheitssymptomen — verringerte Freßlust, Mattigkeit, plötzlichen Erregungszuständen und Durchfällen, die von Schmerzen begleitet zu sein schienen — stellte der behandelnde Tierarzt die Diagnose auf Paracolibazillose und sandte uns den Kadaver eines Tieres zwecks bakteriologischer Bestätigung seiner Annahme zur Sektion ein. Diese ergab in kurzem folgendes: Die Därme waren wenig gefüllt, durch Gase dagegen aufgetrieben, die Schleimhaut sah fast wie ausgewaschen aus; die Mesenteriallymphknoten waren geringgradig, die Milz stärker geschwollen, die Pulpa weich, fast flüssig, die Leber lehmfarben und mürb, die Nieren waren getrübt und in der Rindenschicht streifig gerötet. Die Lungen waren ohne Befund, am Epicard des Herzens fanden sich punktförmige Blutungen. Aus den Organen und dem Herzblut wurde durch Ausstrich der Stamm 21 gewonnen.

Bei den im Untersuchungsgange mit dessen Kulturen vorgenommenen Agglutinationen fiel deren geringe Agglutinationsfähigkeit mit Kälberserum sofort auf; auch nach mehrmaligem Umzüchten trat eine Aenderung nicht ein. Jetzt prüfte ich mit menschlichem Paratyphusserum und erhielt bei Verwendung z. B. des Serums vom Titer  $\frac{1}{3200}$  deutlich positive Reaktion bis 2560 (Tabelle IV).

Bei den wenige Tage nachher uns zugesandten Organteilen eines zweiten Kalbes ergab sich auch wieder das gleiche Resultat, d. h. der hieraus gezüchtete Bakterienstamm gab starke Agglutination mit Paratyphus B-Serum, während er sich Kälber- und Gärtner-Serum gegenüber genau so verhielt wie No. 21. Die Werte sind daher in die beigelegten Tabellen nicht mitaufgenommen.

Merkwürdig gestaltete sich nun der Befund im weiteren Verlaufe der Erkrankungen. Die in den nächsten Wochen unter denselben Symptomen wie die früheren eingegangenen Kälber lieferten mir nun ganz unerwarteterweise nicht mehr ähnlich reagierende, sondern Bakterienstämme, die mit dem menschlichen Paratyphusserum (Titer  $\frac{1}{3200}$ ) nur mehr schwächere Agglutination ergaben (etwa  $\frac{1}{800}$ ), bei denen indessen das Agglutinationsvermögen gegenüber

Kälberserum gestiegen schien; der positive Ausfall der Reaktion war bei Verwendung des Kälberserums vom Titer  $\frac{1}{4000}$  nicht mehr  $\frac{1}{400}$ , sondern meist bis  $\frac{1}{120}$  sichtbar. Leider konnte ich nicht mehr verfolgen, wie umgekehrt mit diesen Kulturen hergestellte Sera sich gegenüber dem Gärtner- und Paratyphusstamme verhielten.

Wertvolles Untersuchungsmaterial, das vielleicht eine weitere Umstimmung des Agglutinationsvermögens gezeigt hätte, ging leider dadurch verloren, daß man uns die Tiere, die späterhin erkrankten, nicht mehr zusandte, weil man an die Gleichartigkeit aller dieser Fälle glaubte, bis plötzlich ein erneut heftiges Auftreten der Erkrankungen den Besitzer doch wieder veranlaßte, sich hilfesuchend an das Institut zu wenden. Bei den nun fast zu gleicher Zeit eingesandten beiden Kadavern mußten wir jetzt die Diagnose „Paracolibazilliose“ stellen. Die gewonnenen Reinkulturen ergaben mit unserem Kälberserum  $\frac{1}{4000}$  eine positive Agglutination bis  $\frac{1}{1200}$ , desgleichen auch mit Gärtner-Serum hohen Ausschlag, verhielten sich dem menschlichen Paratyphusserum gegenüber aber negativer, indem Agglutination kaum in den ersten Röhrchen  $\frac{1}{50}$  bzw.  $\frac{1}{80}$  eintrat.

Das nach diesem Befunde dann zu Schutz- und Heilzwecken verwendete, bereits mehrfach erwähnte Serum scheint sich außerordentlich gut bewährt zu haben, wenigstens sind weitere Verluste von dem Besitzer im Laufe der nächsten 3 Monate nicht mehr zur Anzeige gekommen.

Ohne weiteres drängt sich bei näherem Studium dieser Fälle die Frage auf: ist diese allmähliche Aenderung im agglutinatorischen Verhalten der betreffenden Stämme damit zu erklären, daß eine Aenderung etwa der agglutininbindenden Fähigkeiten im Tierkörper selbst eingetreten ist, und handelt es sich dabei um beginnende Umwandlung biologischer Eigenschaften eines Paratyphusstammes, etwa wie dies Sobernheim und Seligmann (6) beobachtet haben, oder endlich liegt hier das zufällige Zusammentreffen durch ganz verschiedene Erreger hervorgerufener Krankheitsformen vor?

Nicht- bzw. schwach agglutinierbare Bakterien der Paratyphus-Gärtner-Gruppe kommen gelegentlich auch bei gesunden Kälbern vor; die letztere Erklärung scheint demnach mir die wahrscheinlichere zu sein, doch ist schließlich auch die erstere Ansicht nicht ganz auszuschließen, gelang es doch Boddaert (7) durch mehrfache Passage eines Paratyphus B-Stammes durch den Kaninchenkörper, die Agglutinierbarkeit dieser Bakterien so abzuändern, daß die Kultur auf Gärtner-Serum nunmehr zu reagieren begann, während sie sich umgekehrt ihrem eigenen, mit dem Ausgangsstamm hergestellten Serum gegenüber völlig indifferent verhielt. Schmitt (8) konnte nachweisen, daß Paratyphusserum, welches mit Menschenbazillen aus Pferd und Kaninchen gewonnen war, die Passagestämme (Paratyphusbazillen) um so niedriger agglutinierte, je länger sie im lebenden Körper des Kalbes verweilt hatten.

Was im Laboratorium absichtlich geschieht, nämlich die Passage pathogener Keime von Tier zu Tier, ist draußen sehr leicht von selbst möglich, was auf die Räumlichkeiten und die obwaltenden hygienischen Verhältnisse zurückzuführen ist, unter denen die Kälber selbst auf größeren Gütern meist noch gehalten werden.

Stamm 12 wurde aus den Organen und der Fleischprobe eines ebenfalls angeblich an der Paracolibazillose eingegangenen Kalbes isoliert. Nach der Agglutinierbarkeit dieses Stammes mit Paratyphusserum (Tabelle IV und V) und der nach R. Müller für Paratyphus B. angeblich so charakteristischen Knopfbildung auf Raffinoseagar muß ich ihn gleichfalls als echten Paratyphus B-Stamm ansprechen.

Auch der Stamm 34 zeigte gewisse Eigentümlichkeiten, die ihn keineswegs als den gewöhnlichen Paracoli-Erreger, entsprechend der großen Gruppe meiner übrigen Stämme, erscheinen lassen. Wie aus den obigen Tabellen hervorgeht, ist seine Agglutinationsfähigkeit dem Kälber- und auch dem Gärtner-Serum gegenüber verhältnismäßig gering, wahrscheinlich nur Mitagglutination infolge der hochwertigen Sera. Mit Paratyphus B-Serum ist hingegen auch hier die Agglutination bedeutend kräftiger und höher, wenn auch nicht ganz in dem Maße, wie bei den vorigen (s. Tabelle IV und V).

Die Stämme No. 39, 40 und 41 sind ebenfalls wieder von Tieren desselben Gutes gewonnen. Der Tatbestand war folgender: 2 nebeneinander stehende Kühe hatten fast zur selben Zeit gekalbt. Die Neugeborenen wurden neben den Muttertieren belassen. Die aus dem Wurf der einen Kuh längere Zeit heraushängende Nachgeburt wurde laut Angabe des Besitzers von der anderen aufgenommen, worauf sich bei diesem Tiere bald Erscheinungen einer schweren Darm-entzündung mit profusen Diarrhöen und hohem Fieber einstellten. In diesem Stadium der Erkrankung wurden wir von dem behandelnden Tierarzt nicht zu Rate gezogen. Aus der mitgenommenen Kotprobe ließen sich neben Coli-Bazillen massenhaft Bakterien der Paratyphusgruppe gewinnen (St. 39). Das Blut war steril, das Serum dieses Tieres agglutinierte den gewonnenen Stamm zunächst nur in der Verdünnung  $\frac{1}{80}$ .

Kurz darauf erkrankte das dem betreffenden Muttertiere zugehörige Kalb und ging nach wenigen Tagen ein. Bei der Sektion bot sich hier das Bild einer schnell verlaufenden, septischen Erkrankung. Es zeigte sich am Darm Schwellung und Rötung der Schleimhaut, der Darminhalt war stellenweise blutig verfärbt; es bestand ferner Milztumor mit weicher, himbeerfarbener Pulpa, Schwellung der Leber, Trübung des Nierenparenchyms und des Herzmuskels. Die bakteriologische Untersuchung wies in den Organen des Kalbes das Vorhandensein ganz ähnlicher Bakterien nach wie in dem Kote des Muttertieres (St. 40).

Noch während der Krankheit des ersten zeigte bereits das zweite Kalb Symptome, die auch bei diesem eine Ansteckung vermuten ließen, doch nahm hier die Erkrankung nicht einen so akuten, sondern mehr schleppenden Verlauf, so daß das Tier erst mit ca. 5 Wochen zur Sektion gelangte. Pathologisch-anatomisch fiel besonders der starke Milztumor auf, auch die Leber war geschwollen, im Parenchym lagen vereinzelt graugelbe, scharfumrissene Herde. Die Darmschleimhaut war samtartig geschwollen, doch fehlte die blutige Entzündung. Die Nieren zeigten die Erscheinungen der Nephritis maculosa alba. Aus der Milz und der Leber wurden Bakterien isoliert, die keine Unterschiede gegenüber den in den ersten beiden Fällen gefundenen aufwiesen (St. 41).

Der Zustand des Muttertieres hatte sich inzwischen derart verschlimmert, daß zu befürchten war, das Tier würde verenden. Das

Serum einer kurz vor dem Tode noch entnommenen Blutprobe agglutinierte den aus dem Kote gezüchteten Stamm, sowie den Kälberstamm No. 40 und den später hinzugekommenen Stamm No. 41 nach einer etwa 10—12-tägigen Krankheitsdauer in der Verdünnung  $1/160$ . Bei der Sektion des Rindes fiel die schwere Entzündung am Darm auf. Irgendwelche Erscheinungen einer Metritis fehlten.

Das ganze Krankheitsbild ist vielleicht so zu erklären, daß durch das Aufnehmen der Nachgeburt eine Enteritis bei dem betreffenden Rinde hervorgerufen wurde, und hierdurch die zufällig vorhandenen Paratyphuserreger Gelegenheit bekamen, sich massenhaft zu vermehren. Möglich ist allerdings auch, daß die Paratyphusbazillen selbst die Darm-entzündung veranlaßt haben. Durch die flüssigen Defäkationen würde dann auch das Euter beschmutzt worden sein, und bei dem Sauggeschäfte fanden so die Bakterien weiteren Eingang in den Körper des einen, vielleicht auch direkt in den des anderen Kalbes, wo sie dann die tödliche Krankheit bewirkten.

Das agglutinatorische Verhalten gegenüber Paratyphus B-Serum mögen die folgenden Tabellen wiedergeben:

Tabelle IV.

Menschliches Paratyphus B-Serum, Titer  $1/3200$ .

Kultur	Verdünnungen:														
	$1/20$	$1/40$	$1/60$	$1/80$	$1/100$	$1/160$	$1/200$	$1/320$	$1/400$	$1/610$	$1/800$	$1/1280$	$1/1600$	$1/2500$	$1/3200$
Stamm 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ 21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ 23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 34	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—
„ 39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
„ 40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ 41	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Tabelle V.

Menschliches Paratyphus B-Serum, Titer  $1/8000$ .

Kultur	Verdünnungen:														
	$1/20$	$1/40$	$1/60$	$1/80$	$1/100$	$1/160$	$1/200$	$1/320$	$1/400$	$1/640$	$1/800$	$1/1280$	$1/1600$	$1/2560$	$1/3200$
Stamm 12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 34	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
„ 39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ 41	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Eine weitere Prüfung auf die Natur dieser letzten Stämme erfolgte noch mit Hilfe des Castellianischen Versuches. Hierbei wurde zunächst der Kulturrasen je zweier Agarröhrchen der Stämme Paratyphus B 12, 21, 34, 39 und 40 in je 10 ccm einer Serumverdünnung von Paratyphus B  $1/500$  verbracht und diese 2 Stunden im Brutschrank belassen. Die Verdünnung  $1/500$  wurde deshalb gewählt, um bei dem verhältnismäßig hochwertigen Serum etwaige Mitagglutination auszuschalten. Als Kontrolle dienten gleichzeitig 10 ccm derselben Serumverdünnung mit

der Kultur zweier Agarröhrchen eines der gewöhnlichen Paracoli-Stämme. Die Aufschwemmungen wurden nach diesen 2 Stunden 20 Minuten hindurch scharf in einer elektrischen Zentrifuge ausgeschleudert und von der jetzt klaren, überstehenden Flüssigkeit in Uhlenhuthschen Röhrchen je 1 ccm abgefüllt und hierin wieder etwa je  $\frac{1}{2}$  Oese der oben genannten Stämme und ebenso Gärtner und Paracoli verrieben, worauf dann alle diese Röhrchen nochmals auf 1 Stunde in den Brutschrank zurückkamen. Nach 12-stündigem Verweilen im dunklen Raume wurde dann das in der folgenden Tabelle VI enthaltene Resultat abgelesen.

In ähnlicher Weise wurde bei einem 2. Versuche verfahren, nur daß hier statt der Paratyphusserumverdünnung eine solche von Gärtner-Serum in derselben Konzentration benutzt wurde. Die Kontrolle erfolgte mit demselben Stamme wie oben (Tabelle VII).

Schon nach dem 2-stündigen Verweilen im Brutschrank zeigte sich bei dem 1. Versuch in denjenigen Röhrchen, die die Paratyphusserumlösung enthielten, mit Ausnahme der Kontrolle, eine Agglutination mit Bildung eines Bodensatzes, desgleichen bei dem 2. Versuche in demjenigen Glase, das die Paracoli-Kultur enthielt.

Aus meiner Tabelle VI geht nun hervor, daß nach der Verreibung der einzelnen Stämme nur noch schwache Agglutination für den homologen Stamm, den Paratyphus B, eintritt, die anderen Stämme nicht mehr beeinflußt wurden, daß dagegen bei der Kontrolle, wo also die Agglutinine durch die Vorbehandlung nicht gebunden sind, sämtliche in Betracht kommenden Stämme stark agglutiniert werden, ebenso noch schwach der Mäusetypus; die Serumverdünnung aber ohne jeden Einfluß auf Gärtner und Paracoli ist.

Umgekehrt bleibt, wie zu erwarten, im 2. Versuche (Tab. VII) die Agglutination für den Paratyphus B und desgleichen für die Stämme 12, 21, 34, 39 und 40 aus, tritt dagegen bei Gärtner und Paracoli sofort kräftigein, während in der Kontrolle nur bei Gärtner eine schwache Agglutination noch zu bemerken ist.

Tabelle VI.

Paratyphus B-Serum, Titer  $\frac{1}{6000}$ ; Verdünnung  $\frac{1}{500}$ .

Serum $\frac{1}{6000}$ ist abgesättigt mit Kultur von:	Nach 2-stündigem Verweilen im Brutschrank wird in je 1 ccm der Serumverdünnung verrieben $\frac{1}{2}$ Oese von:								
	Para- typhus B	Stamm 12	Stamm 21	Stamm 34	Stamm 39	Stamm 40	Gärtner	Para- coli	Mäuse- typhus
Paratyphus B	sch.	—	—	—	—	—	—	—	—
Stamm 12	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 21	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 34	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 39	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 40	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Paracoli (Kon- trolle)	st.	st.	st.	st.	st.	st.	—	—	sch.

Tabelle VII.

Gärtner-Serum, Titer  $\frac{1}{10000}$ , Verdünnung  $\frac{1}{500}$ .

Serum $\frac{1}{500}$ ist abgesättigt mit Kultur von:	Nach 2-stündigem Verweilen im Brutschrank wird in je 1 ccm der Serumverdünnung verrieben $\frac{1}{2}$ Oese von:								
	Para- typhus B	Stamm 12	Stamm 21	Stamm 34	Stamm 39	Stamm 40	Gärtner	Para- coli	Mäuse- typhus
Paratyphus B	—	—	—	—	—	—	st.	st.	—
Stamm 12	—	—	—	—	—	—	„	„	—
„ 21	—	—	—	—	—	—	„	„	—
„ 34	—	—	—	—	—	—	„	„	—
„ 39	—	—	—	—	—	—	„	„	—
„ 40	—	—	—	—	—	—	„	„	—
Paracoli (Kon- trolle)	—	—	—	—	—	—	sch.	—	—

Erklärung: In den Tabellen VI und VII bedeutet die Abkürzung st. = starken, sch. = schwachen, und das Zeichen „—“ den negativen Ausfall der Reaktion.

Wenn ich zum Schluß nochmals auf das pathologische Bild, das die Organe dieser Kälber boten, zurückkomme, so möchte ich nur dabei erwähnen, daß dasselbe sich natürlich in nichts von dem unterschied, das man auch bei Tieren fand, die an reiner Paracolibazillose gelitten hatten. So wie die Organe zur Untersuchung vorgelegt wurden, war es absolut unmöglich, im voraus an diesen irgendwelche Unterschiede herauszufinden, die eine andere Diagnose vermuten ließen, und erst die weitere bakteriologische Untersuchung ergab in allen den hier beschriebenen Fällen den abweichenden Befund. Gewisse Unterschiede im jeweiligen Sektionsbilde werden natürlich immer durch die Dauer der Krankheit und etwaige Mischinfektionen, wie das schon Wiemann betonte, bedingt. Der von mancher Seite aufgestellten Behauptung, daß das Fehlen von Durchfällen etwa ein Charakteristikum der Paracolibazillose sei, muß ich indessen an dieser Stelle noch widersprechen; ich habe Paracoli-Fälle zur Untersuchung erhalten, bei denen die Durchfälle überhaupt das einzige auffällige Krankheitsmerkmal gebildet hatten. Mit Recht könnte man deshalb nach den besonders scharf hervortretenden pathologischen Befunden von einer rein enteritischen, pulmonalen und septischen Form der Krankheit sprechen.

Das Resultat meiner Untersuchungen möchte ich in den Sätzen zusammenfassen, daß

1) das klinische und pathologisch-anatomische Bild der echten Paracolibazillose (Jensen, Wiemann) der Kälber, die allerdings unter den zur Untersuchung gelangenden Fällen aus der Provinz Ostpreußen das Hauptkontingent bildete, gelegentlich auch durch andere Krankheitserreger als den Paracolibacillus hervorgerufen wird, und daß

2) unter diesen Erregern, von atypischen Fällen abgesehen, der Bacillus paratyphosus B, resp. Vertreter der

**Paratyphus B-Gruppe** häufiger vorkommen, als vielleicht angenommen wird.

**Bemerkung:** Die vorliegende Arbeit wurde bereits vor dem Kriege zusammengestellt. Ihre Herausgabe konnte indessen besonderer Umstände wegen erst jetzt erfolgen, so daß nachträgliche, inzwischen eingegangene Literaturergänzungen und Berichtigungen zu diesem Kapitel nicht mehr berücksichtigt worden sind.

#### Literaturangaben.

- 1) Wiemann, Die Paracolibacillosis (Jensen) der Kälber und ihre Beziehungen zu den Fleischvergiftungen durch Bakterien vom Typus *Bac. enteritidis* (Gärtner). [Inauguraldissertation.] Bern 1908.
- 2) Jensen, Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 3. Berlin 1903; Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. 4. 1892; Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 9. 1905.
- 3) Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen. Jena (Fischer).
- 4) Müller, R., Kulturunterschiede bei Paratyphus- und Enteritiskakterien. (Deutsch. med. Wochenschr. 1910.)
- 5) Ledschbor, Der Paratyphusbacillus B. bei geschlachteten Kälbern als Erreger miliarer Organnekrosen und die Beurteilung solcher Kälber in Hinsicht auf die Tauglichkeit zum Genuß für Menschen. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 6. 1909.)
- 6) Sobernheim u. Seligmann, Beobachtungen über die Umwandlung biologisch wichtiger Eigenschaften von Bakterien. Untersuchungen an der Enteritisgruppe. (Deutsch. med. Wochenschr.) 1910. — Beiträge zur Biologie der Enteritiskakterien. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 6. 1910.)
- 7) Boddaert, Ueber die Umwandlung agglutininbindender Eigenschaften des Paratyphus B-Bacillus. (Deutsch. med. Wochenschr. 1910.)
- 8) Schmitt, F. M., Der Bacillus paratyphosus B als Krankheitserreger bei Kälbern. (Deutsch. Tierärztl. Wochenschr. 1908.) (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Mischinfektionen auf der Kaninchenhornhaut bei der experimentellen Pockenepitheliose.

Von Regierungsrat Dr. Gustav Paul,

Direktor der Staatsimpfanstalt in Wien.

Mit 17 Figuren im Text.

Lange war ich der auch von Gins<sup>1)</sup> geteilten Anschauung, daß Entzündungsprozesse mit Trübung der Cornea und stärkeren Reizerscheinungen der Conjunctiva auf dem geimpften Kaninchenauge gegen Variola sprechen, da sich gerade das Variolavirus durch seinen Mangel an Reizwirkungen auf der Cornea auszeichnet. Erst einige nur auf Grundlage des makroskopischen Befundes gestellte Fehldiagnosen in Fällen, deren weiterer klinischer Verlauf keinen Zweifel über den Variolacharakter der Erkrankung aufkommen ließ, haben mich in der Folge zur Vorsicht gemahnt und die Vorstellung von bakteriellen Mischinfektionen nahegerückt.

<sup>1)</sup> 1) Gins, H. A., Erfahrungen mit der experimentellen Pockendiagnose nach Paul. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 1118)



In der Tat haben spätere Erfahrungen und die nachträgliche Durchmusterung meines reichen Materials an konservierten Präparaten einschlägiger Fälle den klaren Beweis erbracht, daß Variolaveränderungen im Epithellager und entzündliche Prozesse im Bindegewebsstratum der Cornea nebeneinander bestehen und ohne diagnostische Schwierigkeiten sicher voneinander unterschieden werden können.

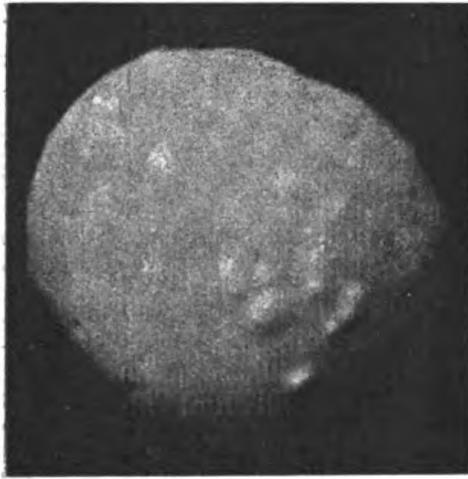


Fig. 1. Pockenepitheliose, 48 post inocul.; abgekappte Kaninchenhornhaut, Sublimatfixation, 5-fache Vergr.

Bevor auf die Schilderung konkreter Fälle an der Hand von Lichtbildern eingegangen werden soll, halte ich zur Orientierung im Gegenstande zunächst die Vorführung und Besprechung einiger makroskopischer und histologischer Bilder von Präparaten der typischen Veränderungen auf der mit Variola infizierten Kaninchenhornhaut für geboten.

48 Stunden nach der Inokulation erscheinen auf der, vorher auf

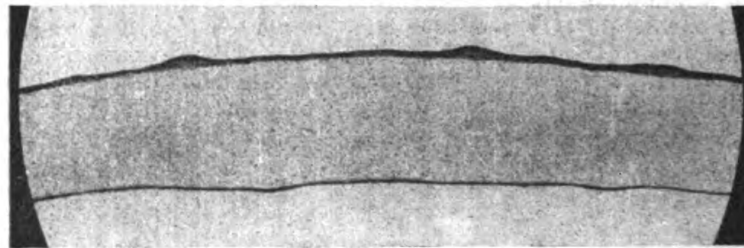


Fig. 2. Pockenepitheliose; histologisches Uebersichtsbild von Fig. 1, Sagittalschnitt, Sublimatfixation, Hämalaunfärbung.

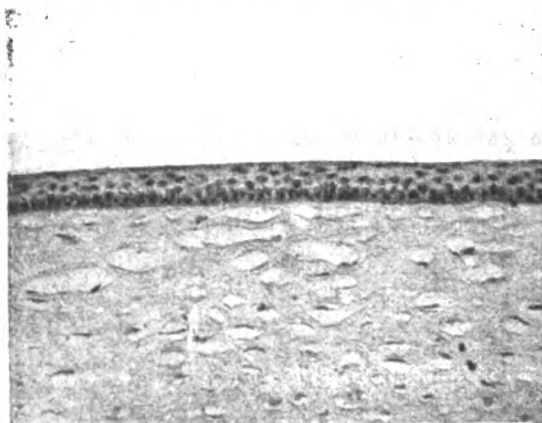


Fig. 3. Teilquerschnitt einer normalen Kaninchencornea. Epithellager mit einem Teil der Substantia propria corneae.

wenige Minuten im Sublimatalkohol getauchten Cornea die spezifischen Epithelwucherungen in der Regel in der Form, wie sie die Fig. 1 zeigt.

Fig. 2 bietet ein Uebersichtsbild eines Querschnittes durch die variolierte Hornhaut (vom Präparat Fig. 1).

Fig. 3, der partielle Querschnitt einer normalen Kaninchenhornhaut, diene als Vergleichsobjekt mit den histologischen Bildern der durch die Variolainfektion hervorgerufenen pathologischen Veränderungen.

Fig. 4 und 5 veranschaulichen den histologischen Befund vom Präparate Fig. 1.

Etwa 96 Stunden nach der Inokulation erscheinen die Epithelhügel peripher gewachsen und zeigen im Zentrum eine kreisrunde, wie mit einem Locheisen ausgestanzte, kraterförmige Vertiefung (s. Fig. 6).

Nach etwa 112 Stunden werden die Hügel noch breiter, der Kraterrand und die Hügelperipherie zeigen bereits Zeichen beginnender

Schrumpfung (Kräuslung), der Kratergrund fängt an, sich wieder mit neugebildetem Epithel zu überziehen (s. Fig. 7).

Die Kraterbildung als Ulzeration aufzufassen, ist nicht zutreffend,

da ihre Entstehung durch keine Entzündungs-, sondern einzig und allein durch Abstoßungsvorgänge der „reifsten“, d. i. der zunächst der Impfstelle befindlichen und deshalb von der Infektion am längsten betroffenen und am meisten veränderten Epithelzellen bedingt ist.

Die histologische Untersuchung bestätigt durchaus diese Annahme. Denn bei typisch und rein verlaufendem Inokulationsprozeß fehlt jegliches Zeichen einer reaktiven Entzündung am Grunde des Kraters. Weiter ist bemerkenswert, daß die in Abstoßung begriffenen Epithelzellen eine auffallende Umwandlung ihrer ursprünglichen Struktur und ihrer biologischen Eigenschaften erfahren, also keineswegs als „nekrotisch“ bezeichnet werden können.

Fig. 8 zeigt in starker Vergrößerung den Durchschnitt eines solchen Epithelkraters

(Fig. 6). In der Mitte des Kratergrundes befindet sich eine eigenartig verwandelte Epithelzelle, knapp vor ihrer Abstoßung. Auffallend an ihr ist eine knospenartige Vorstülpung des Protoplasmas. Einige solcher vom Epithellager losgelösten Zellen (Schachtelzellen nach



Fig. 4. Pockenepitheliose, 48h post inocul.; Sagittalschnitt durch einen Epithelhügel von demselben Präparat wie Fig. 1 und 2, mittlere Vergr.

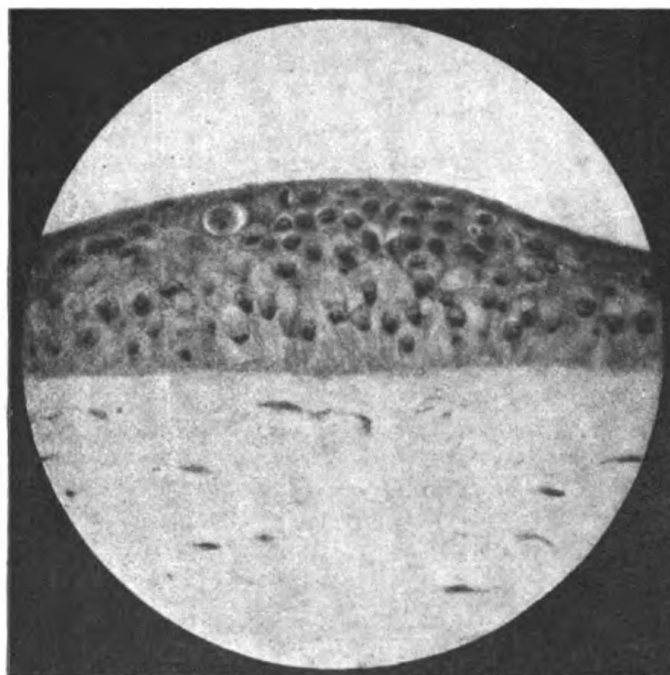


Fig. 5. Stärkere Vergr. der Fig. 4.

Hückel) zeigt Fig. 9. In Nativpräparaten konnte ich an ihnen deutlich amöboide Bewegungen wahrnehmen.



Fig. 6. Pockenepitheliose, 96 h post inocul., 6-fache Vergr. mit scharf ausgeprägter Kraterbildung.



Fig. 7. Pockenepitheliose 112 h post. inocul.

Nach diesen Beobachtungen unterliegt es also keinem Zweifel, daß es sich bei dem variolaspezifischen Wucherungs- und Entartungsprozeß

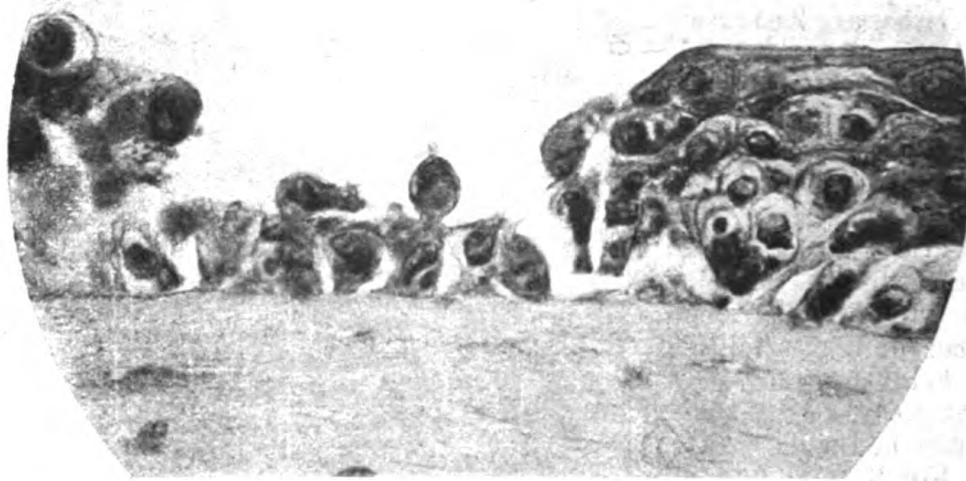


Fig. 8. Pockenepitheliose, 96 h post inocul.; Querschnitt durch einen Epithelkrater, sehr starke Vergrößerung, Sublimatfixation, Hämalaunfärbung.

primär keineswegs um nekrobiotische Vorgänge im gewöhnlichen Sinne handeln kann, wie ich dies früher, konform mit der Weigertschen Auffassung von den analogen Vorgängen in den Pocken der Haut, angenommen habe, sondern daß im Gegenteil eine durch den eingedrungenen

Erreger hervorgerufene pathologische Steigerung der Vitalität in den Infektionsherden des Epithellagers, also ein abnormer Reizzustand der Epithelzellen vorliegt, der als Endeffekt die merkwürdige, in ihrem Wesen noch in Dunkel gehüllte Umwandlung ihrer ursprünglichen Gestalt und Natur herbeiführt. Dabei erhält sich die Lebensfähigkeit dieser Zellen, die offenbar als Wirtszellen für den Variolaparasiten zu dienen haben, anscheinend sehr lange. Ja man gewinnt den Eindruck, als zwänge sie der Eindringling zu einer besonderen Art von endogener Zellbildung, um sich den Wirtsorganismus recht lange

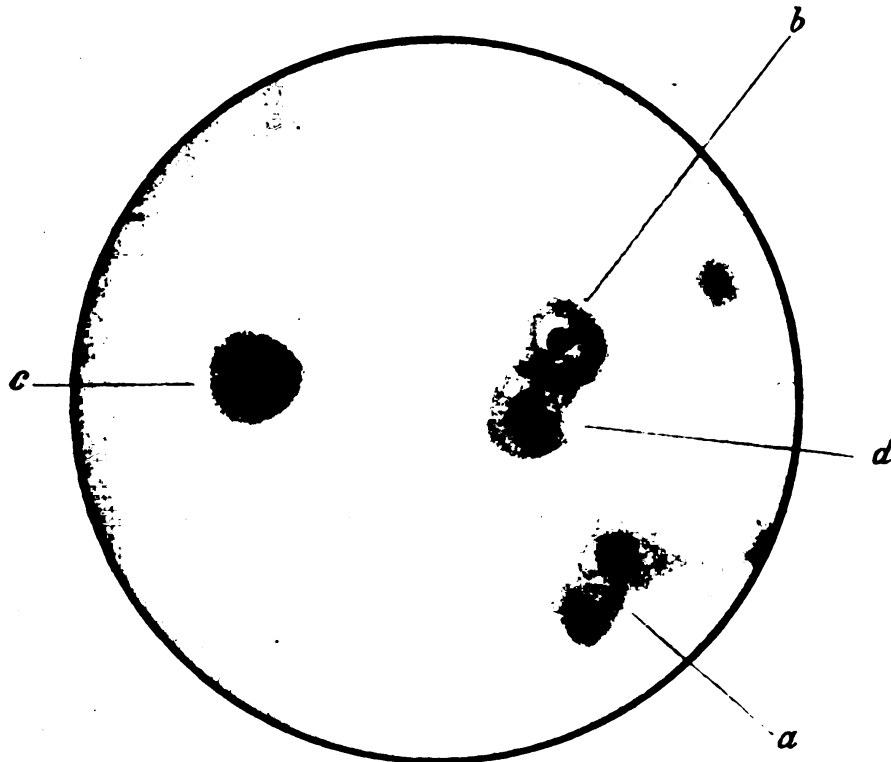


Fig. 9. Entwicklungsgang der „Schachtelzellen“. Eine Gruppe losgelöster Zellen aus einem Epithelkrater bei der Pockenepitheliose, 96 h post inocul.; Schnittpräparat, Sublimatfärbung, Hämalaunfärbung, homog. Immers., *a* gequollene Epithelzellen ohne auffallende Kernveränderung; *b* großes „Guarnierisches Körperchen“ mit Plasmahülle (Hofbildung), in einer tiefen Delle des ihm haubensförmig aufsitzenden Zellkernes; *c* zu einer epitheloiden Zelle herangewachsenes „Guarnierisches Körperchen“, der Kern der Mutterzelle erscheint platt an die Zellwand gedrückt; *d* mehrfache Schachtelzelle mit Tochter- und Enkelzelle; von der Mutterzelle ist nur noch ein schmaler Plasmasaum sichtbar.

lebensfähig und dienstbar zu erhalten. Das Bild dieser „Schachtelzellen“ ist überaus charakteristisch (vgl. Fig. 9 rechts oben und unten). Der infolge der Infektion schon sehr frühzeitig einsetzende Hydrops der Basalzellen des Cornealepithels scheint ein Vorstadium der beschriebenen Metamorphose zu sein.

Die früher von mir<sup>1)</sup> und anderen Autoren gebrauchten Bezeichnungen: „Keratitis variolosa sive vaccinica“, „Epithelnekrosen“, „Herdweise disseminierte toxische Epithelnekrosen“ u. dgl. sind also unrichtig.

1) Paul, Zur Differentialdiagnose der Variola und der Varicellen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. S. 523.)



Ich habe jüngst vorgeschlagen<sup>1)</sup>, die spezifischen Veränderungen auf der mit Pockeninhalt geimpften Cornea als Pockenepitheliose (Epitheliosis variolosa corneae ex inoculatione) zu bezeichnen.

Daß die Variola- und Vaccineerreger lediglich das Epithel angreifen und in den charakteristischen Reizzustand versetzen, während die Entzündungserreger nur das Bindegewebe aggressiv und reaktiv zu beeinflussen vermögen, beweisen unzweideutig meine Beobachtungen bei den Mischinfektionen, denen ich in erster Linie aus diagnostischen Gründen in letzter Zeit besonderes Augenmerk gewidmet habe.

Bei Verimpfung hochvirulenten, aus Frühstadien der Pockenentwicklung stammenden Materials fehlen nahezu regelmäßig Entzündungs-

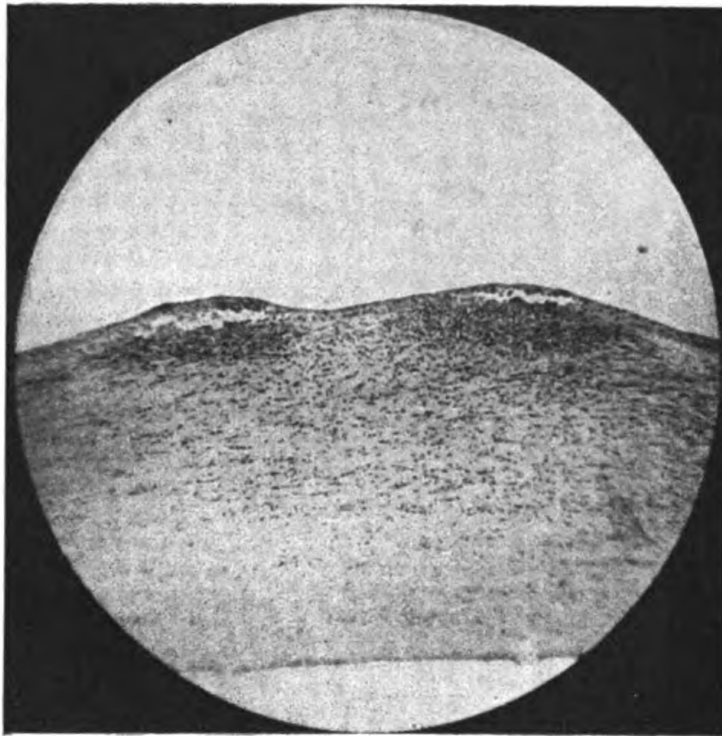


Fig. 10. Keratitis suppurativa diffusa mit blasiger Epithelabhebung.

erscheinungen (Trübung der Cornea, Injektion der Conjunctiva, eiterige Sekretion). Es ist dies nicht merkwürdig, denn einerseits ist die Kaninchenhornhaut gegenüber traumatischen Einwirkungen sehr tolerant, und die Regeneration des Epithels erfolgt außerordentlich rasch; andererseits ist der Pockeninhalt in den Frühstadien bekanntlich bakteriell steril. Die Epitheldefekte schließen sich sehr rasch über den Verletzungsstellen im Bindegewebe, wobei die zusammenrückenden Epithelzellen wie ein natürlicher Tampon alle Verletzungslücken

und Nischen ausfüllen und dadurch die Impfwunde der Cornea vor Sekundärinfektionen vom Bindehautsack aus schützen. Dieser Schutz verstärkt sich augenscheinlich durch die infolge der Variolainfektion sehr rasch eintretende hydropische Quellung der Epithelzellen, wodurch der Abschluß um so bakteriendichter wird.

Enthält das Untersuchungsmaterial hingegen wenig entwickelfähige Variolakeime, dafür aber mehr virulente Eitererreger, wie dies bei Pockeninhalt aus dem Suppurationsstadium die Regel zu sein pflegt, dann kommt es nicht selten zu Mischinfektionen. Dabei bestimmt das Ueberwiegen des einen, nur das Epithel, oder des anderen, bloß das Bindegewebe betreffenden Infektionsprozesses den Charakter des makroskopischen und histologischen Bildes der von einer solchen Mischinfektion ergriffenen Cornea.

1) Paul, Entwicklungsgang der Pockenepitheliose auf der geimpften Kaninchenhornhaut. (Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 45.)

Das makroskopische Bild der im Sublimatalkohol fixierten Cornea ist infolgedessen bei solchen Mischinfektionen ziemlich bunt und gestattet nicht ohne weiteres, eine sichere Diagnose zu stellen; diese kann vielmehr erst auf Grund der histologischen Untersuchung, dann aber mit zweifelloser Sicherheit gestellt werden.

Gérloczy und Vas<sup>1)</sup> haben Fälle beobachtet, wobei die Cornealimpfung mit aus Borkenmaterial hergestellter Kochsalzemulsion, insbesondere bei sehr starker Skarifikation und reichlicher Beschickung mit Material, schon nach 24 Stunden sehr heftige Entzündungserscheinungen mit diffuser Trübung der Cornea, starker Injektion der Conjunctiva und eiteriger Sekretion aufwies. Trotz dieser heftigen Erscheinungen war die Reaktion doch variolapositiv, wovon sich die genannten Forscher durch Einbringen des Bulbus in das Sublimatbad eindeutig überzeugen konnten, da auf der Cornea neben kreideweißen Infiltrationsherden sich auch isolierte Epithelhügel nachweisen ließen.

Meine eigenen Erfahrungen stehen mit diesen Beobachtungen vollständig im Einklange, nur vermag ich sie noch durch die Resultate der histologischen Untersuchungen beweiskräftig zu stützen.

Die Einimpfung von Material aus Aknepusteln, Eiterblasen, Abszessen verschiedenster Art kann, wie Ghon, Gerloczy, Vas und ich selbst beobachtet haben, auf der im Sublimatbade fixierten Cornea makroskopisch Bilder liefern, die bei flüchtiger Betrachtung gewisse Aehnlichkeiten mit der Variolareaktion besitzen und deshalb zu Täuschungen Anlaß bieten können.

Aber nicht immer ruft die Einimpfung staphylokokken- und streptokokkenhaltigen Materials entzündliche Reaktionen hervor; mitunter kann schon 36 Stunden nach der Einimpfung die Hornhaut wieder ganz glatt und spiegelnd sein, wie dies Versuche von Gérloczy und Vas und zahlreiche eigene Beobachtungen bestätigen.

Bei dieser Gelegenheit muß, im Gegensatz zu Jürgens, der das Auftreten von durchsichtigen Höckerbildungen auf der geimpften Hornhaut beim lebenden Versuchstiere schon 24—36 Stunden nach der Inokulation als beweisend für Variola ansieht, davor eindringlich gewarnt werden, beim Corneaversuch bloß auf Grundlage des makroskopischen Befundes am lebenden Tier ein abschließendes Urteil zu fällen, wie ich dies bereits wiederholt hervorgehoben habe.

Die Corneaoberfläche zeigt nämlich bei gewissen Formen von reiner Impfkeratitis, die nur mit leichten Reizerscheinungen und kaum wahrnehmbarer Trübung der Cornea einhergehen, nicht selten schon nach 24 Stunden und sogar noch früher kleine, durchsichtige Höcker, die in vivo mit Variolahügeln leicht zu verwechseln sind. Erst das Sublimatbad, bzw. die sich daran schließende histologische Untersuchung bringen die sichere Entscheidung.

Meine Ausführungen glaube ich am beweiskräftigsten und überzeugendsten durch Vorführung der Haupttypen rein entzündlicher Reaktion auf der geimpften Cornea und von Mischinfektion im makroskopischen und histologischen Bilde stützen zu können.

Fig. 10 zeigt das typische Bild einer schweren, traumatischen Keratitis suppurativa mit beginnender, blasiger Abhebung des Epi-

1) Gérloczy u. Vas, Ueber den differentialdiagnostischen Wert der Paulschen Variolareaktion. (Berlin. klin. Wochenschr. 1917. No. 16.)

thels. Trotz der Heftigkeit des entzündlichen Prozesses im Bindegewebe zeigt das Epithel keine Zeichen einer aktiven Mitbeteiligung.

Das makroskopische Bild (Fig. 11) stammt von einem sanitätspolizeilichen Untersuchungsfall wegen Pockenverdachts (Prot.-No. 211) im

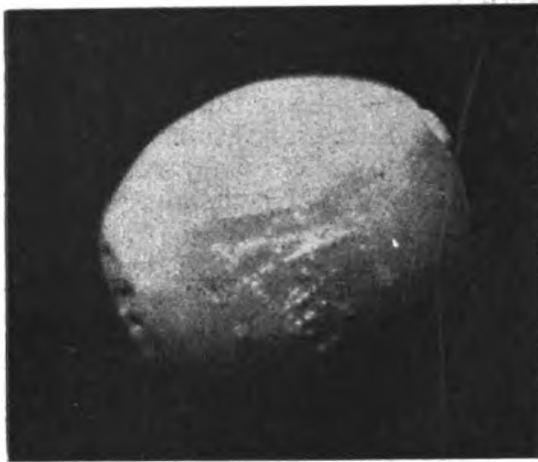


Fig. 11. Makroskopisches Bild einer Keratitis ulcerosa traumatica, die eine variolöse Impfreaktion vorgetäuscht hat.

Januar 1916 und wurde von uns makroskopisch als variolapositiv beurteilt. Es war zum ersten Male, daß wir ein derartiges Bild zu Gesicht bekamen. Als es sich später herausstellte, daß der weitere klinische Verlauf und eine positive Impfung bei dem kranken Kinde jeden Zweifel an dem Varicellencharakter der Krankheit ausschloß, wurde die aufbewahrte Cornea nachträglich histologisch untersucht. Diese

erwies eindeutig eine infektiöse Keratitis ulcerosa (Fig. 12). Bemerkenswert in diesem Falle war auch, daß der Befund in vivo durchsichtige Höcker bei anscheinend klarer Cornea und geringen Reizerscheinungen darbot und uns in der irrigen Varioladiagnose bestärkte.

Schwierigkeiten bei der makroskopischen Beurteilung bot der Fall Prot.-No. 331 (Fig. 13 a u. b). Beim ersten Anblick haben wir die Affektion, die mit heftigsten Reizerscheinungen einherging, für eine schwere ulze-

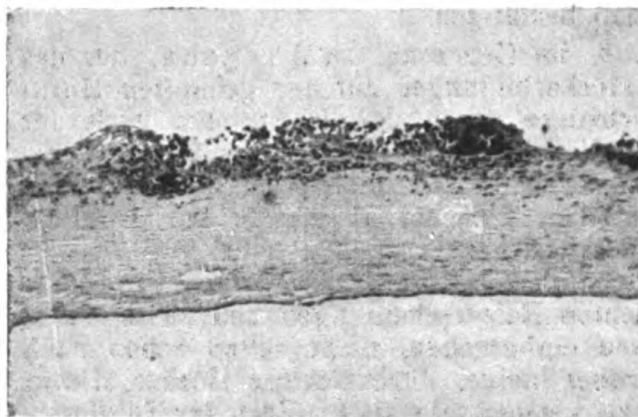


Fig. 12. Querschnitt durch ein Hornhautgeschwür von demselben Präparat wie Fig. 11; die dunklen Herde sind Bakteriennester.

röse Keratitis gehalten. nur fielen uns die wallartigen Randverdickungen bei den Epitheldefekten und ihre gruppenartige Anordnung auf der Cornea (Fig. 13a) und die wallartig verdickte Umrandung des großen Epitheldefektes auf der Cornea des rechten Auges (Fig. 13b) auf, die an eine Variolainfektion denken ließen.

Die kreideweissen, scharf und eckig hervortretenden Flecke (Fig. 13b) erkannten wir hingegen schon makroskopisch sofort als entzündliche Infiltrations-

herde im Bindegewebe, da uns solche Bilder häufig begegnet waren. Die histologische Untersuchung ergab geradezu überraschende Bilder einer Mischinfektion, die mir zum ersten Male klar bewiesen, daß Variolainfektion des Epithels und Eiterinfektion des Bindegewebes unter gewissen, oben angedeuteten Umständen zeitlich zusammenfallen, nebeneinander bestehen und ohne Schwierigkeiten diagnostiziert werden können,

da beide Prozesse artverschieden sind und vollkommen unabhängig voneinander bestehen und verlaufen.

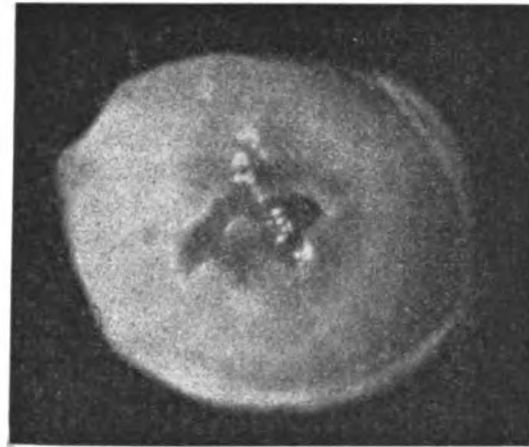
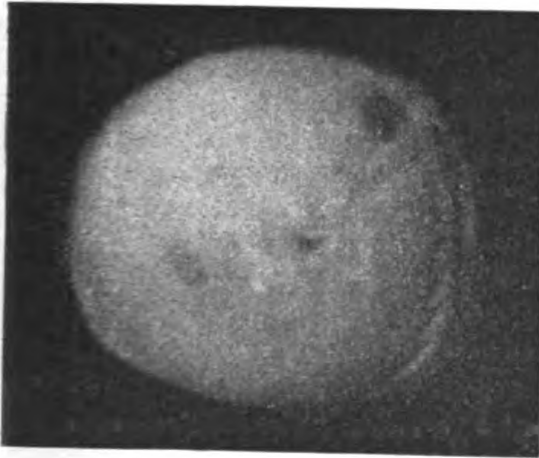


Fig. 13a.

Fig. 13b.

Fig. 13a u. b. Mischinfektion, Variolaepitheliose kombiniert mit Keratitis ulcerosa.

Fig. 14 zeigt einen oberflächlich liegenden, von Epithel entblößten Infiltrationsherd in unmittelbarer Nachbarschaft eines Variolahügels, der in Fig. 15 in stärkerer Vergrößerung die durch die Variolainfektion bewirkten spezifischen Veränderungen deutlich erkennen läßt.

Besondersinstructiv ist das Bild Fig. 16, wo der Variolahügel dem entzündlichen Infiltrationsherde unmittelbar überlagert ist.

Ich habe mir in der diagnostischen Praxis für den Untersuchungsgang folgende Richtschnur zur Regel gemacht:

1) Versuchstiere, bei denen die Cornea 48 Stunden nach der Impfung in vivo keinerlei pathologische Erscheinungen bei Lupenbetrachtung wahrnehmen läßt, werden nicht getötet, der Befund als „variolanegativ“ bezeichnet und die Amtsstelle in diesem Sinne von dem in vivo erhobenen Untersuchungsbefunde telegraphisch verständigt.

Erste Abt. Orig. Bd. 80.



Fig. 14. Querschnitt von dem Präparat Fig. 13b, links ein Entzündungsherd, rechts ein Variolahügel.

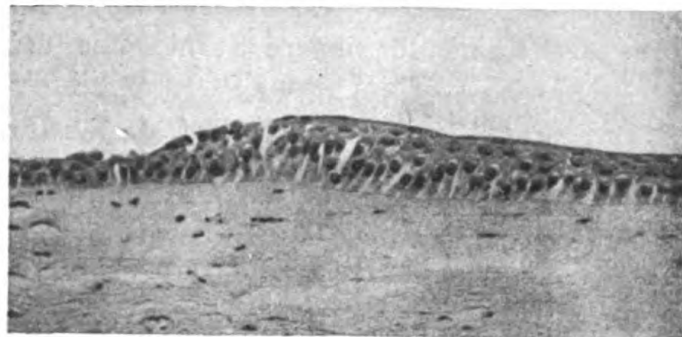


Fig. 15. Stärkere Vergrößerung des Variolahügels von Fig. 14.

Heft 6.

24



2) Zeigen sich hingegen beim Versuchstiere in vivo auf der Cornea pathologische Erscheinungen welcher Art immer — infektiöse Keratitiden entwickeln sich bekanntlich sehr rasch, oft überaus stürmisch — so wird das Kaninchen nach Ablauf von 48 Stunden jedenfalls getötet, die Bulbi werden enukleiert, auf 10 Minuten in Sublimatalkohol (4 g Sublimat, 30 ccm Alkohol von 98 Proz., 60 ccm Aqu. dest.) gebracht, danach die Cornea abgekappt, unter Alkohol in den von mir für diesen Zweck angegebenen genabelten Blockschälchen aus schwarzem Glas zunächst genau makroskopisch durchmustert und zumeist auch photographiert.



Fig. 16. Ein Variolahügel, unmittelbar darunter ein Entzündungsherd, von dem Präparat Fig. 13b.

Die makroskopisch eindeutig als variolapositiv sich präsentierenden Fälle werden in der Regel nicht histologisch untersucht und das Gutachten nur auf Grund des makroskopischen Befundes abgegeben. Die histologische Untersuchung wird in jedem einzelnen Falle jedenfalls dann vorgenommen, wenn nur der geringste Zweifel an der Variolaeigenart des makroskopischen Befundes auftaucht oder Unsicherheiten irgendwelcher Art bestehen.

Bei Einhaltung dieses Untersuchungsganges kann einem keine variolapossive Reaktion entgehen. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ein neuer Strongyloides bei Füllen.

[Aus der Klinik für innere Krankheiten der tierärztlichen Hochschule in Utrecht.]

Von Prof. J. Wester.

Mit 2 Figuren im Text.

Beim Durchmustern der Exkremente von jungen Füllen für klinische Zwecke mit dem Mikroskop findet man öfters sehr kleine Wurmeier von variierender Größe. Sie messen z. B. 45 bei 45, 54 bei 36 oder 54 bei 30  $\mu$ . Auch die Form variiert von eirund bis rund; bisweilen sind sie auch vieleckig.

Die Schale ist sehr dünn, der Embryo vielfach schon in Entwicklung

begriffen. Bisweilen ist das Protoplasma noch granuliert, oder zeigt schon eine Einschnürung als Zeichen der Organisation; vielfach ist aber auch in frischem Dünger der Embryo schon geformt und macht lebhaft Bewegungen. Daher kommt es, daß das Ei nicht immer die gleiche Form zeigt.

Bewahrt man die Exkremente der infizierten Füllen einige Stunden auf, so findet man, daß die Eier fast alle ausgeschlüpft sind; es wimmelt dann in dem Gesichtsfelde von sehr kleinen Larven ( $\frac{1}{2}$  mm). Letztere sind anfänglich wenig organisiert und filaria-, später aber auch schlangenförmig, wonach dann auch die Rhabditis-Form erscheint. Wenn man die Fäzes trocken stehen läßt, so sterben die Larven ab, während sie in feuchtem Dünger monatelang am Leben bleiben. In Wasser leben sie nur einige Stunden.

Bis jetzt ist es mir nicht gelungen, geschlechtsreife Würmer im Dünger zu züchten.

Das Muttertier ist eine kleine, drahtförmige Nematode mit unbewaffnetem Mund, welche in dem Darmschleime lebt. Niemals findet man sie in die Darmschleimhaut eingebohrt, bisweilen aber wohl ein wenig festgesogen.

Bis jetzt habe ich nur weibliche Formen gefunden. Die Fortpflanzung geschieht während des parasitischen Lebens, anscheinend nur parthenogenetisch. (Vgl. die nachstehende nähere zoologische Beschreibung von Dr. Ihle!)

Die Nematode kommt in Holland überall vor, aber nur bei Füllen; bei älteren Pferden habe ich sie niemals gefunden. Die Füllen sind bisweilen schon im Alter von 10–14 Tagen infiziert, auch wenn sie noch

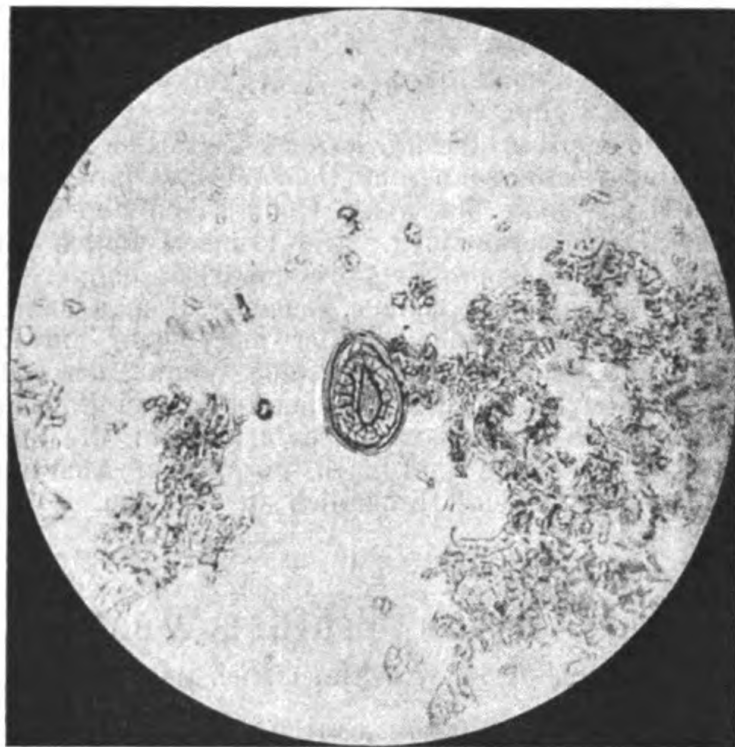


Fig. 1. Würmermistemembryo ( $\times 200$ ).



Fig. 2. Strongyloides bei Füllen ( $\times 10$ ).

niemals auf der Wiese geweidet haben. Die Infektion muß daher im Stalle zustande kommen.

Der Mist zeigt in solchen Stallungen massenhaft Embryonen, speziell da, wo er angehäuft liegt, daher feucht und warm ist.

Diese Stallinfektion ist wahrscheinlich für die Verbreitung der Parasiten am meisten verantwortlich, da die Larven ja beim Austrocknen sowie im Wasser absterben. Das Trinkwasser spielt dabei wahrscheinlich gar keine Rolle.

Die meisten der infizierten Fülle zeigen keine deutlichen Krankheitssymptome; nur wenn sehr viele Würmer im Darms leben, kann das Tier dann und wann ein wenig Kolik haben und abmagern; auch Diarrhöe kann dabei vorkommen. Die kranken Füllen sind leicht mit Liquor Fowleri (5—8 g pro Tag, das während einiger Tage gegeben wird) zu heilen. Schon nach einigen Tagen sieht man dann, daß das Protoplasma sich zurückzieht und die Eier nicht mehr zur Entwicklung kommen. Die Tiere genesen aber meistens, wenn auch nicht alle, auch spontan. Bei 1- oder 1½-jährigen Pferden findet man die Eier nur noch sehr selten.

Für die Prophylaxis ist es erwünscht, die Stallungen sehr rein und trocken zu halten und nach sorgfältiger Ausräumung des Mistes den Boden bisweilen mit Kalkmilch zu begießen. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Strongyloides Westeri n. sp.

Von J. E. W. Ihle, (Reichstierarzneischule) Utrecht.

Folgende Arten der Gattung Strongyloides sind als Parasiten des Darmes von Säugetieren beschrieben:

- 1) *S. stercoralis* Bavay, beim Menschen (cf. Braun, 1915).
- 2) *S. papillosus* Wedl = *Rhabdonema longum* Grassi et Segrè, bei: Schafen, Ziegen, Kaninchen (cf. Ransom, 1911).
- 3) *S. suis* Lutz, beim Schwein; möglicherweise identisch mit *S. papillosus* (cf. Foster, p. 38, 41).
- 4) *S. ovocinctus* Ransom, bei *Antilocapra americana* (Ransom, 1911).
- 5) *S. Fülleborni* v. Linst., bei afrikanischen Affen (*Chimpanse*, *Cynocephalus babuin*, v. Linstow, 1905). Auch van Durme (1902, p. 472), erwähnt einen Strongyloides aus dem Darms der Chimpanse.
- 6) Eine von Darling bei einem amerikanischen Affen (*Cebus hypoleucus*) aufgefundene Strongyloides-Art (Darling, 1911).
- 7) Eine von Darling beim Ameisenbar, *Nasua nasica panamensis* aufgefundene Strongyloides-Art (Darling, 1911).
- 8) Eine von Gonder bei einem Affen (*Inuus sinicus*) aufgefundene Art (Gonder, 1907).
- 9) Als *S. viviparus* Probstmayr, *Oxyuris vivipara* oder *Anguillula vivipara* wurde ein Parasit des Pferdes beschrieben, welcher aber schon dadurch von der Gattung Strongyloides abweicht, daß die parasitische Generation aus Männchen und Weibchen besteht. Diese Art wurde von Ransom (1907) in die Gattung Probstmayria versetzt.

Von meinem Kollegen, Herrn J. J. Wester, wurde mir ein von ihm im Darms eines Füllens aufgefundener Parasit zur Untersuchung überlassen, welchen ich als eine neue Strongyloides-Art betrachte und *S. Westeri* zu nennen vorschlage. Arten dieser Gattung waren noch nicht beim Pferde aufgefunden worden.

Ich lasse die Beschreibung des geschlechtsreifen, parthenogenetischen Weibchens hier folgen. Später hoffe ich, Angaben über die Entwicklung der Larven in den Faeces machen zu können. Die neue Art ist nahe mit *S. papillosus* verwandt, übertrifft ihn aber in allen Maßen.

Von allen mir bekannten Arten von *Strongyloides* weicht die neue Art ab durch ihre große Körperlänge, welche 8—9 mm erreicht. Der fadenförmige Körper ist in seiner ganzen Länge fast gleich dick (nur etwa 80—95  $\mu$ ). Der vordere Teil des Körpers aber, welcher den Oesophagus enthält, wird von hinten nach vorn allmählich dünner, so daß das vordere Ende etwa 25  $\mu$  dick ist. Auch in einiger Entfernung vor dem After fängt der Körper an, dünner zu werden; in der Querebene des Afters beträgt die Dicke etwa 36—40  $\mu$ . Der hinter dem After gelegene Körperteil bildet eine konische Spitze, welche gleich vor dem Ende meistens deutlich angeschwollen ist.

Die Cuticula ist fein quer geringelt. Die Mundöffnung wird von Papillen umgeben, deren Zahl ich nicht genau habe feststellen können. Der Oesophagus ist sehr lang, ein wichtiges Merkmal dieser Gattung. Seine Länge beträgt 1,2—1,5 mm, also etwa  $\frac{1}{6}$  bis  $\frac{1}{7}$  der Körperlänge. Der Oesophagus nimmt nach hinten allmählich an Dicke zu (bis 55—60  $\mu$ ). Der After ist 120—130  $\mu$  vom Hinterende entfernt. Neben ihm liegt eine große, abgerundete Papille.

Die weibliche Geschlechtsöffnung ist quer gestellt und mit einer etwas hervorragenden vorderen und hinteren Lippe versehen. Sie liegt am Anfange des hinteren Körperdrittels. Die Umbiegungsstelle der vorderen Eiröhre liegt kurz hinter dem Hinterende des Oesophagus, die Umbiegungsstelle der hinteren Eiröhre in einiger Entfernung vor dem After. Die vordere Eiröhre ist von der vorderen Umbiegungsstelle ab über eine große Länge um den Darm geschlungen. Dasselbe gilt bisweilen auch für einen kurzen, gleich vor der Umbiegungsstelle gelegenen Teil der hinteren Eiröhre. Die im Uterus befindlichen Eier sind noch ungefurcht. Im Darmschleim befinden sich zahlreiche, in der Entwicklung begriffene Eier, von denen viele einen wurmförmigen Embryo enthalten. Die Eier werden in Strängen abgelegt, wie dies Ransom (1911, p. 108) für *S. ovocinctus* und Brumpt (1913, p. 494) wahrscheinlich für *S. papillosus* beschrieben hat. Die Stränge findet man in großer Zahl im Darmschleim. Nach Ransom besteht ihre Hülle aus der abgestreiften Cuticula des Körpers. Die Eier haben eine dünne Schale und sind etwas variabel in Größe, etwa 40—52  $\mu$  lang und 32—40  $\mu$  breit.

#### Literatur.

- Braun, M., Die tierischen Parasiten des Menschen. 5. Aufl. Bd. 1. 1915.  
 Brumpt, E., Précis de parasitologie. 2. éd. Paris 1913.  
 Darling, S. T., Strongyloides infections in man and animals in the Isthmian canal zone. (Journ. experim. Med. Vol. 14. 1911.)  
 Durme, P. van, Quelques notes sur les embryons de Strongyloides intestinalis et leur pénétration par la peau. (Thompson Yates Laborat. Report. Vol. 4. 1902.)  
 Foster, W. D., The roundworms of domestic swine. (U. S. Departm. Agric., Bur. anim. Industr. Bull. 158. 1912.)  
 Gonder, R., Beitrag zur Lebensgeschichte von Strongyloiden aus dem Affen und dem Schafe. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 25. 1907.)  
 Linstow, v., Strongyloides Fülleborni n. sp. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. 1905.)  
 Ransom, B. H., Probstmayria vivipara (Probstmayr, 1865) Ransom, 1907, a Nematode of horses heretofore unreported from the United States. (Trans. Amer. Microsc. Soc. Vol. 27. 1907.)  
 — The Nematodes parasitic in the alimentary tract of cattle, sheep and other Ruminants. (U. S. Departm. Agric., Bur. anim. Industr. Bull. 127. 1911.) (G O.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber ein neues wasserlösliches Kresolpräparat „Fawestol“.

[Aus der bakteriologischen Abteilung (Abt.-Vorst. Prof. Dr. Sobernheim) des Medizinalamtes der Stadt Berlin (Stadtmedizinalrat Geh. Reg.-Rat Dr. Weber).]

Von Dr. Fritz Dittborn.

Die Verfahren, wasserlösliche Kresolpräparate herzustellen, lassen sich in verschiedene Gruppen einteilen. In die eine Gruppe gehören diejenigen Präparate, bei denen das Kresol in Lösung gebracht wird, ohne in seiner chemischen Zusammensetzung verändert zu werden, z. B. die verschiedenen Kresolseifenlösungen, die durch Zusatz von Oxykarbonsäuren hergestellten Solveole, die durch Kresolnatrium löslich gemachten Solutele, ferner die durch das hydrindensulfosaure Natrium gelösten Kresole und das mit Hilfe von Kresotinsäure löslich gemachte Kresol (Kresotinkresol). Hierher gehören auch noch die Kresolpräparate, bei denen das Kresol durch Emulgierungsmittel, wie Leim, Dextrin und Harzseifen, in eine lösliche Form übergeführt worden ist. Diese lösen sich in Wasser nicht klar, sondern bilden milchig getrühte Emulsionen (Kreolin). Bei allen diesen Präparaten übersteigt der Kresolgehalt in der Regel nicht 50 Proz., der übrige Teil des Präparates besteht aus Lösungs- bzw. Emulgierungsmitteln.

Eine besondere Gruppe bilden die durch chemische Umsetzungen des Kresols wasserlöslich gemachten Präparate, unter denen das bekannteste die Kresolschwefelsäure ist, die unter verschiedenen Namen, wie Avantol, Sanatol, Automors, in den Handel gebracht wurde. Der Zusatz der Schwefelsäure steigert die Giftigkeit erheblich. Hierdurch, sowie durch die stark saure Reaktion, ist ihr Anwendungsgebiet naturgemäß eng begrenzt.

In neuester Zeit wird von der Chemischen Fabrik Westend G. m. b. H., Berlin-Weißensee, ein neues, patentamtlich geschütztes Kresolpräparat unter dem Namen Fawestol in den Handel gebracht, das dem Medizinalamt zur Prüfung und Begutachtung übergeben wurde. Da das Präparat, das nach Angabe der Fabrik 100 Proz. Kresol enthält, unter den bisher bekannten wasserlöslichen Kresolpräparaten einen neuen Typus darstellt, der geeignet erscheint, die infolge des Seifenmangels nicht mehr zu beschaffende Kresolseifenlösung zu ersetzen, sei über das Prüfungsergebnis im allgemeinen Interesse berichtet.

Fawestol stellt eine Flüssigkeit dar, welche sich in ihrer äußeren Beschaffenheit vom Rohkresol nicht unterscheidet. Es gibt, mit Wasser vermischt, bis zu 2,25 Proz. klare Lösungen. 2,5 und höher prozentige Lösungen erscheinen mehr oder weniger getrübt und scheiden bei längerem Stehen (24 Stunden) geringe Mengen ungelöster fester und flüssiger Bestandteile ab. Die klaren Lösungen (bis zu 2,25 Proz.) sind unbegrenzt haltbar. Die Lösungen werden nach Vorschrift der Fabrik in der Weise angefertigt, daß die erforderliche Menge Fawestol mit der gleichen Menge Wasser kurze Zeit geschüttelt und die hierbei entstehende Emulsion in die entsprechende Wassermenge gegossen und durch Umrühren verteilt wird. Nach unseren Erfahrungen nimmt die Herstellung einer Fawestollösung im wesentlichen nicht mehr Zeit in Anspruch als die einer Kresolseifenlösung.

Nach der in der Chemischen Abteilung des Medizinalamtes vorgenommenen chemischen Prüfung entspricht das Fawestol den qualita-

tiven und quantitativen Anforderungen des deutschen Arzneibuches V. Ueber das Herstellungsverfahren des Fawestols will die Fabrik in Betracht der Zeitverhältnisse bis auf weiteres keine näheren Angaben veröffentlichen<sup>1)</sup>.

Die bakteriologische Prüfung des Präparates, zur Feststellung seiner keimtötenden Kraft in verschiedenen Konzentrationen, wurde in folgender Weise ausgeführt:

- 1) mit Bakterienaufschwemmungen,
- 2) mit an Seidenfäden bzw. Seidenläppchen angetrockneten Bakterien und Bakteriensporen (Milzbrand) und
- 3) mit Stuhlproben.

### I. Versuch mit Bakterienaufschwemmungen.

Die Versuche wurden in der im Medizinalamt üblichen Weise derart ausgeführt, daß die mittels Kochsalzlösung hergestellten, durch sterile Gaze filtrierten Bakterienaufschwemmungen in Glasschälchen (Kartoffelschälchen) mit gleichen Teilen der Desinfektionsflüssigkeiten vermischt wurden. In dieser Mischung war diejenige Menge des Desinfektionsmittels enthalten, in welcher der Versuch ausgeführt werden sollte. Die in bestimmten Zeitabständen mittels einer großen Oese entnommenen Proben wurden sowohl auf Agar als in Bouillon übertragen und bei 37° C bebrütet. Das Resultat wurde nach 24 Stunden, sowie nach 8 Tagen abgelesen und notiert. Zur Feststellung der Wachstumsfähigkeit der angewendeten Bakterienaufschwemmungen wurden bei allen Versuchen Kontrollröhrchen mit den Abschwemmungen, vor Einwirkung des Präparates, angelegt. Bei allen Versuchen wurde stets ein Parallelversuch mit Kresolseifenlösung von gleichem Kresolgehalt angestellt.

Bei diesen Versuchen ergab sich, daß Fawestol in 2,5-, 2,0-, 1,5- und 1,0-proz. Lösung Cholera-vibrionen, Coli-, Typhus-, Diphtherie- und Pyocyaneus-Bazillen, sowie Staphylokokken bereits nach der kurzen Einwirkungs-dauer von 1 Minute abzutöten imstande ist. Das gleiche Resultat lieferte die Kresolseifenlösung in entsprechenden Konzentrationen (2–5-proz.).

Die Prüfung der 0,5-proz. Fawestollösung und der 1-proz. Kresolseifenlösung ergab, wie aus Tabelle I ersichtlich ist, daß in dieser Konzentration die Wirkung des Kresols unsicher wird. Während im 1. Versuch das Fawestol Cholera-vibrionen, Typhus- und Pyocyaneus-Bazillen nach 1 Minute, Coli-, Diphtheriebazillen und Staphylokokken nach 5 Minuten abtötet, sind im 2. Versuch Cholera-vibrionen, Typhus- und Diphtheriebazillen nach 1 Minute, Pyocyaneus und Staphylokokken nach 5 Minuten und Coli-Bazillen erst nach 10 Minuten abgetötet. Noch schwankender ist das Ergebnis bei den Kontrollversuchen mit der Kresolseifenlösung von gleichem Kresolgehalt. In dem einen Versuch werden z. B. Coli-Bazillen noch nicht nach 15 Minuten, in dem anderen Versuch Staphylokokken erst nach 10 Minuten abgetötet. Die Kontrollen zeigten üppiges Wachstum.

Um dem Einwand zu begegnen, daß die günstigen Ergebnisse der Fawestolprüfung nicht lediglich auf Abtötung, sondern auch auf Wachstumshemmung zurückzuführen seien, wurde noch ein Versuch mit 1-proz.

1) Wir konnten uns durch eigene Versuche überzeugen, daß 100-proz. Rohkresol durch das der Firma geschützte Verfahren in die angegebene wasserlösliche Form übergeführt werden kann. Infolge dieses Zusatzes besitzen die auf diesem Wege hergestellten Lösungen eine große Benetzungsfähigkeit.



Tabelle I').

Art der Bakterien- aufschwemmung	0,5-proz. Fawestol = 0,5 Proz. Kresol				1-proz. Kresolseifenlösung = 0,5 Proz. Kresol				Kontrollen
	1'	5'	10'	15'	1'	5'	10'	15'	
1. Versuch.									
Cholera-vibrien	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Coli - Bazillen	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Typhusbazillen	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Diphtheriebazillen	+	—	—	—	—	—	—	—	+
Pyocyaneus - Bazillen	—	—	—	—	+	—	—	—	+
Staphylokokken	+	—	—	—	+	—	—	—	+
2. Versuch.									
Cholera-vibrien	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Coli - Bazillen	+	+	—	—	+	+	—	—	+
Typhusbazillen	—	—	—	—	+	—	—	—	+
Diphtheriebazillen	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Pyocyaneus - Bazillen	+	—	—	—	+	—	—	—	+
Staphylokokken	+	—	—	—	+	+	—	—	+

Zeichenerklärung: + = Wachstum, — = Abtötung.

Fawestollösung nach der Neutralisierungsmethode mit Rüböl im Buckelröhrchen nach Schneider und Seligmann vorgenommen. Als Testobjekte wurden Aufschwemmungen von Staphylokokken und Pyocyaneus-Bazillen benutzt. Das Ergebnis der Prüfung stimmte vollständig mit dem Resultat der bereits erwähnten Versuche überein. Die beiden Bakterienarten zeigten nach einer Einwirkungs-dauer von 1 Minute des 1-proz. Fawestols völlige Abtötung, die Kontrollen waren üppig gewachsen.

Aus den Versuchen mit Bakterienaufschwemmungen ergibt sich somit, daß bereits 1-proz. Fawestollösungen die Bakterien nach 1 Minute mit Sicherheit abtöten.

## II. Versuche mit Bakterien und Bakteriensporen (Milzbrand), die an Seidenfäden, bzw. Seidenläppchen angetrocknet waren.

### A. Versuche mit Bakterien.

Um die Wirksamkeit des Fawestols auch unter schwierigeren Bedingungen zu erproben, wurden die Bakterien an kleinen, sterilisierten Seidenfäden bzw. Seidenläppchen zur Antrocknung gebracht. Vor der Uebertragung der in die Desinfektionsflüssigkeit eingelegten Testobjekte auf die Nährmedien (Agar und Bouillon) fand ein gründliches Abwaschen derselben in sterilem, destilliertem Wasser statt, um ein Mitverimpfen auch kleinster Teile des Desinfektionsmittels und dadurch eine unter Umständen eintretende Wachstumshemmung zu vermeiden. Kontrollröhrchen mit unbehandelten Läppchen und Fäden wurden auch bei diesen Versuchen angelegt. Gleichzeitig mit den Fawestolprüfungen wurden wieder mit denselben Kulturen und Nährböden zu Vergleichszwecken Versuche mit Kresolseifenlösungen von gleichem Kresolgehalt angestellt.

Als Testbakterien dienten die gleichen Arten, wie zu den Aufschwemmungsversuchen.

Die Versuche ergaben das gleiche Resultat, wie wir es bei den Bakterienaufschwemmungen erhalten haben. 2,5-, 2,0-, 1,5- und 1-proz. Fawestollösungen töteten die an den Seidenläppchen angetrockneten

1) Auf die tabellarische Wiedergabe der Versuche mit 2,5—1,0-proz. Lösungen wird in Rücksicht auf die zurzeit gebotene Raumersparnis verzichtet. Die mehrfach wiederholten Versuche ergaben stets das gleiche, oben erwähnte Resultat.

Bakterien nach 1 Minute völlig ab. Die Kontrollversuche mit 2–5-proz. Kresolseifenlösungen stimmten mit den Resultaten der Fawestolreihen völlig überein.

Die Fawestol- und Kresolseifenlösungen mit einem Gehalt von 0,5 Proz. Kresol zeigten ähnliche Schwankungen, wie sie bei den Versuchen mit Bakterienaufschwemmungen bereits festgestellt werden konnten.

Tabelle II.

Art der an das Lämpchen angetrockneten Bakterien	0,5-proz. Fawestol = 0,5 Proz. Kresol				1-proz. Kresolseifenlösung = 0,5 Proz. Kresol				Kontrollen
	1'	5'	10'	15'	1'	5'	10'	15'	
Cholera-vibrionen	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Coli-Bazillen	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Typhusbazillen	+	—	—	—	—	—	—	—	+
Diphtheriebazillen	+	—	—	—	—	—	—	—	+
Pyocyaneus-Bazillen	+	—	—	—	+	—	—	—	+
Staphylokokken	+	—	—	—	+	—	—	—	+

Bei den in Tabelle II wiedergegebenen Versuchen werden Cholera-vibrionen sowohl von Fawestol wie von Kresolseifenlösung nach 1 Minute abgetötet. Coli-Bazillen bleiben selbst bei 15 Minuten während der Einwirkung lebensfähig. Typhus- und Diphtheriebazillen tötet Fawestol nach 5, Kresolseifenlösung nach 1 Minute ab. Pyocyaneus und Staphylokokken werden von beiden Desinfizienten nach 5 Minuten abgetötet. Die 2 folgenden Versuche mit denselben Konzentrationen (0,5-proz.) zeigen deutlich die Unsicherheit der 0,5-proz. Lösungen.

## 2. Fawestolversuch.

Cholera-vibrionen, Coli-, Typhus-, Diphtheriebazillen } abgetötet nach 1 Min.  
Pyocyaneus, Staphylokokken abgetötet nach 5 Min.

## 3. Fawestolversuch.

Cholera-vibrionen, Typhus-, Diphtherie-, Pyocyaneus-Bazillen und Staphylokokken } abgetötet nach 1 Min.  
Coli-Bazillen abgetötet nach 15 Min.

## 2. Kresolseifenversuch.

Cholera-vibrionen, Typhus-, Diphtheriebazillen } abgetötet nach 1 Min.  
Coli-Bazillen abgetötet nach 10 Min.  
Pyocyaneus, Staphylokokken noch lebend nach 15 Min.

## 3. Kresolseifenversuch.

Cholera-vibrionen, Typhus-, Diphtherie-, Pyocyaneus-Bazillen und Staphylokokken } abgetötet nach 1 Min.  
Coli-Bazillen noch lebensfähig nach 15 Min.

Auch bei diesen Versuchen wurde, wie bei der Prüfung der Bakterienaufschwemmungen, eine Kontrolle auf Entwicklungshemmung vorgenommen.

Da sich die an Stoffen angetrockneten Bakterien nicht in der gleichen Weise wie die Bakterienaufschwemmungen in Rüböl emulgieren lassen, haben wir nach dem Vorgang von Schneider und Seligmann die Neutralisierung mit 0,5-proz. Natronlauge vorgenommen<sup>1)</sup>. Die zu diesem Versuch herangezogenen Bakterienarten, Pyocyaneus-Bacillen und Staphylokokken, wurden nicht an Lämpchen, sondern an Seidenfäden angetrocknet und mit 1-proz. Fawestollösung geprüft. Bereits 1 Minute während der Einwirkung genügte hier, um völlige Abtötung hervorzurufen. Die Kontrollen zeigten gute Entwicklung.

Aus diesen Versuchsreihen ergibt sich, daß die 1-proz. Fawestollösungen auch an Stoffen angetrocknete Bakterien nach einer Einwirkungs-dauer von 1 Minute abzutöten vermögen.

1) Die in der Natronlauge neutralisierten Fäden wurden vor der Uebertragung auf die Nährmedien noch einmal in sterilem destillierten Wasser nachgewaschen.



### B. Versuche mit Sporen (Milzbrand).

Die Wirkung des Kresols auf Milzbrandsporen ist bekanntermaßen nur gering. Seidenfäden, an denen Milzbrandsporen angetrocknet waren, wurden in sterile Drigalski-Schalen gelegt und mit 100 ccm der Desinfektionsflüssigkeit übergossen, so daß die Fäden von der Flüssigkeit vollkommen umspült und durchtränkt wurden. Im ganzen wurden 2 Versuche dieser Art angestellt.

Versuch I mit 2,5-proz. Fawestol- und 5-proz. Kresolseifenlösung. Die Seidenfäden wurden nach der Entnahme aus den Desinfektionsflüssigkeiten in sterilem Wasser abgewaschen und dann auf Bouillon und Agar übertragen; die Entnahme erfolgte in regelmäßigen Abständen von 24 Stunden. Die in Fawestol eingelegten Seidenfäden (6) zeigten bei der Entnahme nach 7-tägigem Aufenthalt kein Wachstum mehr, bei der Entnahme am 8. Tage waren von 6 Proben 2 Proben lebensfähig, nach 9- und 10-tägiger Beeinflussung blieben alle 6 angelegten Kulturen steril. Am 12. Tage zeigte wieder 1 Röhrchen Wachstum, die weiteren Proben, bis zum 15. Tage geprüft, ergaben wieder völlige Abtötung.

Beim Kontrollversuch mit Kresolseifenlösung blieben die Sporen bis zum 14. Tage inkl. lebensfähig, mit dem 15. Tage trat Abtötung ein.

Versuch II wurde ebenfalls mit 2,5-proz. Fawestollösung und 5-proz. Kresolseifenlösung wie bei Versuch I angestellt. Als dritte Vergleichsflüssigkeit wurde in diesem Versuche außerdem eine 2,5-proz., durch mehrstündiges Schütteln hergestellte wässrige Kresollösung herangezogen. Bei den Fawestollösungen war diesmal schon nach 4 Tagen Abtötung der Milzbrandsporen festzustellen, die wässrige, durch Schütteln hergestellte Kresollösung, sowie die Kresolseifenlösung ließen die Milzbrandsporen noch nach 6 Tagen lebensfähig erscheinen. Der Versuch wurde nicht länger fortgesetzt.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Fawestol, ebenso wie die Kresolseifenlösung, gegenüber Milzbrandsporen versagt, ein Ergebnis, das nur die bekannten Erfahrungen bestätigt.

### III. Versuche mit Stuhlproben.

Um die Wirkung des Fawestols auch unter Bedingungen zu prüfen, wie sie in der Praxis an ein Desinfektionsmittel gestellt werden, wurden Stuhlproben von verschiedener Konsistenz, die dem Medizinalamt zur Untersuchung eingesandt worden waren, mit der annähernd gleichen Menge 4-proz. Fawestollösung vermischt. Es entstand so eine 2-proz. Fawestolverdünnung. Nach bestimmten Einwirkungszeiten wurden miteinander große Oese Proben auf Agar und Bouillon übertragen und auf Wachstumsfähigkeit bei 37° C geprüft. Von einem künstlichen Zusatz von Bakterien wurde abgesehen, da es ausreichend erschien, die Einwirkung auf die schon vorhandenen, im allgemeinen widerstandsfähigeren Darmbakterien zu prüfen.

Bei Versuch I wurden 6 Stuhlproben verwendet, das nach 30 Minuten 1, 2, 3 Stunden entnommene Material erwies sich als keimfrei. Die vor dem Versuch entnommenen Proben zeigten üppiges Bakterienwachstum.

In Versuch II wurden 5 Stuhlproben in derselben Weise behandelt, die Prüfung erfolgte diesmal schon nach 10, 15 und 30 Minuten. Auch hierbei ließen sich entwickelungsfähige Keime nicht mehr nachweisen.

Nachdem bei diesen Versuchen durch das Vermischen der 4-proz. Fawestollösung mit den Stuhlproben die Wirkung einer hierdurch entstandenen 2-proz. Lösung erprobt worden war, wurden noch 2 Desinfektionsversuche mit Faecesproben angestellt, bei denen eine 2-proz. Fawestollösung zur Anwendung kam.

Bei dem ersten dieser Versuche wurden 4 diarrhoische Stühle mit ungefähr gleichen Mengen 2-proz. Fawestollösung vermischt, zum Vergleiche wurden dieselben Proben mit 5-proz. Kresolseifenlösung angesetzt.

Bei sämtlichen 4 Stuhlproben, die mit 2-proz. Fawestol versetzt worden waren, zeigte sich schon nach 15 Minuten völlige Abtötung; bei den Vergleichsversuchen mit 5-proz. Kresolseifenlösung ergab sich bei 3 Proben dasselbe Resultat, bei einem Stuhl war erst nach 2 Stunden Abtötung festzustellen. Der 2. Versuch wurde mit 10 Stuhlproben angesetzt, von einem Kontrollversuch mit Kresolseifenlösung wurde in diesem Falle abgesehen. 7 Proben waren diarrhoisch, 3 waren fest geformt. Von den festen Stühlen zeigten 2, von den flüssigen 5 schon nach 15 Minuten Abtötung, 1 diarrhoischer Stuhl war nach 30 Minuten, 1 fester Stuhl nach 1 Stunde steril. Bei einem der flüssigen Stühle war auch nach 2 Stunden noch Wachstum festzustellen; bei der mikroskopischen Prüfung ergab sich, daß die widerstandsfähigen Keime Sporenbildner waren<sup>1)</sup>.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Stuhlproben mit 4-proz. Fawestollösung schon nach 10 Minuten, mit 2-proz. Lösung sicher nach 1 Stunde keimfrei gemacht werden können. Bei sporenhaltigen Faeces ist die Wirkung des Fawestols, seinem Kresolcharakter entsprechend, ebenso unsicher wie bei der Kresolseifenlösung. Da aber die in den Faeces enthaltenen Krankheitserreger im allgemeinen keine Sporenträger sind, ist dies für die Praxis ebensowenig von Bedeutung wie bei der Kresolseifenlösung.

#### Schlusssätze.

I. Im Fawestol besitzen wir ein wasserlösliches Kresol von gleichem Kresolgehalt wie das Rohkresol.

II. Fawestol ist bis zu einer Konzentration von 2,25 : 100 in Wasser klar löslich, diese Lösungen sind unbegrenzt haltbar.

Höher konzentrierte Lösungen sind getrübt und werden zweckmäßig vor Gebrauch frisch hergestellt.

III. Fawestol tötet in 1-proz. Lösung, entsprechend einer 2-proz. Kresolseifenlösung, Bakterien in Aufschwemmungen wie an Stoffen angetrocknet, mit Sicherheit in 1 Minute ab.

Milzbrandsporen gegenüber ist es in 2-proz. Lösung in seiner Wirkung ebenso unsicher wie die 5-proz. Kresolseifenlösung.

IV. Fawestol eignet sich in 2-proz. Lösung auch zur Desinfektion von Stuhlproben, die etwa mit der gleichen Menge der Desinfektionslösung vermischt werden.

V. Fawestol enthält doppelt so viel Kresol wie die Kresolseifenlösung, sie ist infolgedessen hinsichtlich des Materialverbrauches, der Verpackung und des Transportes im Gebrauche billiger und wirtschaftlicher als diese, was für das Präparat von außerordentlicher Bedeutung ist.

VI. Fawestollösungen besitzen infolge der eigenartigen Zusammensetzung des Präparates den Vorzug großer Benetzungsfähigkeit.

VII. Die Fawestollösungen sind von völlig neutraler Reaktion.

VIII. Die 2-proz. Fawestollösung ist ein vollwertiger Ersatz für die 5-proz. Kresolseifenlösung. (G. C.)

<sup>1)</sup> Die vor den Versuchen angelegten Kontrollen zeigten bei allen Stuhlproben üppiges Wachstum.

*Nachdruck verboten*

## Hefeextraktnährböden.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Jena.]

Von A. Kreßler.

Durch die Kriegsverhältnisse sind die bakteriologischen Laboratorien genötigt worden, bei der Herstellung der gebräuchlichen, vom Fleischwasser ausgehenden Nährböden sich nach Ersatz für die Grundstoffe Fleisch oder Fleischextrakt umzusehen. Werden doch selbst früher wertlose Fleischabfälle oder die Brühe aus den Dampfsterilisatoren für bedingt taugliches Fleisch heute ganz zu Ernährungszwecken in Anspruch genommen.

Von ehemals schon benutzten Ersatzmitteln haben wir Plazenten, die uns die Universitätsfrauenklinik freundlichst zur Verfügung stellte, mit gutem Erfolg zu Nährbrühe usw. verarbeitet; doch wird ihre Beschaffung nicht überall möglich sein. Weniger befriedigte die Verwendung des bei der Serumgewinnung übrigbleibenden Blutkuchens, denn das Bakterienwachstum war auch bei vorsichtiger Einstellung der Reaktion gegen Lackmus nicht immer gut, das agglutinatorische Verhalten bisweilen stark verändert; auch ist bei der zunehmenden Benutzung von Blut für die menschliche Ernährung die Beschaffung größerer Blutmengen immer schwieriger geworden, ein Grund, der auch gegen den an sich guten Blutnährboden von Langer<sup>1)</sup> spricht. Bier und Urin haben wir nach dem schlechten Ergebnis früherer Versuche nicht wieder erprobt.

Was während des Krieges an Ersatzstoffen vorgeschlagen worden ist, findet man in Veröffentlichungen von Gaehdgens<sup>2)</sup> und Gaßner<sup>3)</sup> zusammengestellt. Manches davon ist heute nicht oder kaum mehr erhältlich, wie Leguminosen, Kartoffeln, Qark, Maggis gekörnte Bouillon. Anderes, wie das sogenannte Pflanzenfleischextrakt Ochsen, hat Nachuntersucher nicht recht zufriedengestellt. Hefeabkochungen, wozu Gaßner die Breihefe besonders empfiehlt, fielen bei unseren Versuchen nicht sehr günstig aus; wir sahen teilweise geringere Entwicklung der pathogenen Keime, teilweise veränderte Wachstumserscheinungen, auch unerwartete Aenderungen im Agglutinationsvermögen. Reiter<sup>4)</sup> zieht eine getrocknete Breihefe der frischen vor und verweist auf die Fabrik von E. Merck in Darmstadt als Bezugsquelle; jedoch ergab Anfrage bei der Firma, daß sie vorerst nicht in der Lage sind, das Präparat zu liefern.

Durch eine Veröffentlichung von Schrumppf „Ueber Nährhefe“ in der Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1170 wurden wir auf ein Präparat aufmerksam, das von der Firma Apotheker G. Stock, Nahrungsmittelfabrik zu Bernstadt, Schlesien, hergestellt und unter der Bezeichnung Hefe-Kraft-Extrakt in den Handel gebracht wird. Schrumppf studierte seine Verwendung für Ernährungszwecke und rühmt es wegen seines Gehaltes an leicht verdaulichem Protein sowie an geschmackgebenden Substanzen, die mit denen des Liebig'schen Fleischextraktes zu vergleichen seien.

Zur Herstellung des Präparates wird nach Schrumppf eine Branntwein-Bäckereihefe benutzt; für die Züchtung der Hefe dient „ein Gemisch aus Grünmalz, Malzkeimen, Melasse, Superphosphat, Ammonsulphat und anderen anorganischen Salzen, durch eine Reinkultur von

1) Langer, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 720.

2) Gaehdgens, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 78. S. 45.

3) Gaßner, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 79. S. 308.

4) Reiter, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1201.

Delbrückschen Milchsäurebakterien angesäuert“. Der Hefe-Kraft-Extrakt soll nur „aus dem flüssigen Inhalt der Hefezellen hergestellt“ sein: daher sei auch die chemische Zusammensetzung des Präparats wesentlich anders, als die der Trockennährhefen, insofern als es „fast keine Zellulose und relativ sehr viel Mineralstoffe enthält (100 kg frischer Hefe ergeben 20 kg Hefeextrakt, in denen fast die ganzen Salze der 100 kg frischen Hefe enthalten sind), letztere auch infolge des zur Haltbarkeit notwendigen Zusatzes von Kochsalz (5—10 Proz.)“.

In seiner tiefbraunen, zähen, klebrigen Beschaffenheit, im Geruch und im Geschmack, sowohl in Substanz wie in Lösung, hat das Präparat große Aehnlichkeit mit dem Liebig'schen Fleischextrakt. Mikroskopisch findet man in ihm neben amorphen Massen sehr zahlreiche Hefezellen verschiedener Form, die ihre Gestalt und die Färbbarkeit mit Anilinfarben gut erhalten haben. In Wasser ist der Extrakt so gut wie völlig löslich, Fettaggen sind auf der fleischbrühartigen Lösung kaum zu bemerken. Die chemische Zusammensetzung ergeben die folgenden drei, an Fabrikaten verschiedener Tage angestellten Analysen, von denen die erste von Schrumpf mitgeteilt, die zweite vom Nahrungsmitteluntersuchungsamt Jena (Prof. Matthes), die dritte von der staatlichen Nahrungsmitteluntersuchungsanstalt beim Königl. Polizeipräsidium zu Berlin (Geheimrat Prof. Juckenack) ausgeführt worden ist; zum Vergleich ist das Mittel von 6 Analysen Liebig'schen Fleischextraktes nach König, Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, 4. Aufl. Bd. 1. S. 91, beigelegt.

	Hefe-Kraft-Extrakt			Liebig's Fleischextrakt	
	1	2	3		
Wasser	10 Proz.	15,03 Proz.	10,04 Proz.	20,50 Proz.	
Organische Substanz	30,7 „	25,40 „	34,64 „	56,85 „	
Davon Fett	2,2 „	—	—	—	
Mineralstoffe	59,3 „	59,58 Proz.	55,32 Proz.	22,65 Proz.	
Davon Kochsalz	—	50,74 „	53,60 „	2,60 „	
Stickstoffsubstanzen	21,4 Proz.	18,8 „	22,19 „	56,18 „	

Nach diesen Analysen ist anzunehmen, daß der Hefe-Kraft-Extrakt hergestellt wird, indem die Eiweißstoffe der Hefe durch Behandlung mit Salzsäure abgebaut und löslich gemacht werden, worauf mit Soda neutralisiert wird. Auf diese Weise erklärt sich der sehr hohe Kochsalzgehalt; die Angabe von Schrumpf, daß 5—10 Proz. Kochsalz zur Haltbarmachung zugesetzt werden, muß irrig sein.

Die Zusammensetzung der drei untersuchten Extrakte ist ziemlich ähnlich. Die Fabrik machte brieflich aufmerksam, daß der Eiweißgehalt, obwohl nur ganz einwandfreie Preßhefe verarbeitet werde, je nach der stärkeren oder geringeren Infektion der Kulturhefe mit wilden Heferassen, etwas schwanke.

Vom Liebig'schen Fleischextrakt sind die Hefeextrakte sehr verschieden, nicht nur im Kochsalzgehalt, sondern auch im Gehalt an sonstigen Mineralstoffen, an Stickstoffsubstanzen und an organischen Substanzen anderer Art. Die Unterschiede bleiben auch bei Berechnung auf Trockensubstanz bestehen.

Wir haben die Hefeextrakte in 1-prozentigen Lösungen zu Bakteriennährböden verarbeitet. Von einem Kochsalzzusatz zu den Nährböden wurde, in Anbetracht des den Extrakten eigenen hohen Kochsalzgehaltes, abgesehen. Pepton wurde, wie üblich, in Menge von 1 Proz. den Nährböden zugesetzt; die verschiedenen Zuckerarten, Agar, Gelatine usw. wurden ebenfalls in den gebräuchlichen Mengen verwendet. Bei der Bereitung von Nährbouillon und Nähragar konnte in der Regel

von einer Neutralisation abgesehen werden, da die verschiedenen, in Versuch genommenen Hefeextrakte fast stets lackmusneutrale Lösungen ergaben; bei Nährgelatine war eine Neutralisation natürlich erforderlich.

Zur Feststellung, ob die zu verschiedenen Zeiten in der Fabrik hergestellten Hefeextrakte gleichmäßige Ergebnisse lieferten, wurden Fabrikate vom 23. April, 10. und 28. Sept., 4. und 9. Okt. 1917 in Versuch genommen.

Die Ergebnisse waren bei allen 5 Hefeextrakten gleich und gingen dahin, daß die daraus bereiteten Nährböden für die Züchtung der verschiedensten Bakterien sehr gut brauchbar waren. Insbesondere wurden die Hefeextrakte auch zur Herstellung der für die Differentialdiagnose der Typhus-Paratyphus-Coli-Dysenteriegruppe dienenden Nährböden benutzt, also für Drigalski-Conradi-Agar, Endo-Agar, Kongorotagar, Malachitgrünagar, Neutralrotagar nach Rothberger, Lackmusagar mit verschiedenen Zuckerarten und Barsiekowsche Nährlösungen. Sie eigneten sich für alle diese Zwecke ausgezeichnet; namentlich zeigten die Bakterien auf den Hefeextraktnährböden auch normale Agglutinationsverhältnisse.

Besonderes Interesse wendeten wir der Frage zu, ob die Hefeextrakte bei der Bereitung von Nährgelatine für Keimzählungen in Wasser an Stelle des Liebig'schen Fleischextraktes gesetzt werden könnten. Bekanntlich ist für die bakteriologische Feststellung der Wirkung von Sandfiltern bei der Filtration von Oberflächenwasser eine Nährgelatine von besonderer Zusammensetzung und Reaktion amtlich empfohlen worden<sup>1)</sup>, die auch bei sonstigen bakteriologischen Wasseruntersuchungen allgemein verwendet zu werden pflegt, um einheitliche und damit untereinander vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Das Ausgangsmaterial für diese „Wassergelatine“ ist Liebig'scher Fleischextrakt. Dieser ist jetzt im Handel nicht mehr erhältlich, so daß schon aus diesem Grunde nach einem Ersatz für ihn gesucht werden muß. Man wird aber auch künftig, falls er wieder im Handel erscheinen sollte, ihn nicht mehr amtlich für die Nährbödenbereitung empfehlen dürfen, da er von einer englischen Gesellschaft, der Extract of meat Company in Fray Bentos, hergestellt wird und da diese Gesellschaft, wie noch erinnerlich sein wird, gleich bei Beginn des Weltkrieges sich aufs Aeußerste deutschfeindlich erwiesen, ihre deutschen Angestellten sofort entlassen hat usw.

Wir bereiteten die Wassergelatine mit 1 Proz. Hefeextrakt, statt 1 Proz. Liebig-Extrakt, ließen den Kochsalzzusatz wieder fort und alkalisierten mit Sodalösung nach Vorschrift. Dann wurde die Gelatine neben solcher aus Liebig-Extrakt für die Untersuchung von Wasserproben, insgesamt 260 an Zahl, versucht. Die Versuche, zu denen wiederum die 5 Hefeextrakte von verschiedenen Herstellungstagen herangezogen wurden, fielen durchaus zufriedenstellend aus. Die Zahl der auf den Liebig-Extrakt- und den Hefeextraktgelatineplatten zur Entwicklung kommenden Bakterienkolonien stimmte so gut überein, wie es bei der ja nie ganz gleichmäßigen Verteilung der Keime im Wasser nur erwartet werden konnte. Am besten zeigt sich das, wenn man eine Anzahl von Untersuchungen summiert und die Summe durch die Zahl der Einzeluntersuchungen dividiert, um so den Durchschnitt zu errechnen. So ergaben z. B. durchschnittlich Kolonien auf

1) Vgl. Min.-Bl. f. Med. usw. Angelegenh. Berlin 1902. S. 322 ff. — Abel, Die Vorschriften zur Sicherung gesundheits-gemäßer Trink- und Nutzwasserversorgung. Berlin (R. Schoetz) 1911. S. 59 ff. und Abel, Bakt. Taschenbuch. Würzburg. 20. Aufl. 1917. S. 13.

				Liebig-Gelatine	Hefeextraktgelatine
Wasser	1	bei	14 Untersuchungen	155	152
"	2	"	15 "	18	17,5
"	3	"	14 "	25,78	23,63
"	4	"	12 "	18	20,2
"	5	"	3 "	48,3	53,3
"	7	"	22 "	22,5	19,1
"	8	"	22 "	0,9	1,1
"	12	"	16 "	46,5	50,9

Danach kann zu gelegentlichen Wasseruntersuchungen sowohl, wie den Wasserwerken, die dauernd eine bakteriologische Kontrolle ihrer Wasser vornehmen, die Benutzung der Stockschen Hefekraftextrakte, statt des Liebig'schen Fleischextraktes, zur Nährgelatinebereitung ohne Bedenken empfohlen werden.

Der Preis des Hefe-Kraft-Extraktes der Firma Stock ist mit 32 M. für das Kilogramm hoch; Liebig's Fleischextrakt war vor dem Kriege für 16—21 M. das Kilogramm käuflich. Da aber für den Liter Nährgelatine nur 10 g Extrakt nötig sind, beläuft sich der Unterschied bei einem Liter Nährboden nur auf 11—16 Pfennige, was belanglos sein dürfte. Vermutlich wird es wohl auch möglich sein, den Preis später niedriger zu stellen.

Außer den Hefeextrakten von Stock in Bernstadt sind noch andere im Handel. Wir sahen z. B. einen äußerlich ähnlichen von der Löwenbrauerei in München. Mit ihm oder sonstigen Hefeextrakten Versuche zu machen, hatten wir keine Veranlassung, da die von der Firma Stock bezogenen unseren Wünschen völlig entsprachen. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Paraffinum liquidum zur Erhaltung von Dieudonnés Blut-Alkali-Mischung.

[Aus der Abteilung für Tropenhygiene des Kolonial-Instituts Amsterdam.]

Von Prof. J. J. van Loghem und Regierungsarzt J. Nieuwenhuijse.

Dieudonnés Blut-Alkali-Nähragar, der bekannte vorzügliche Nährboden für Choleravibrionen, hat zwei Nachteile:

1) Er ist nicht sofort nach der Mischung von frischem Blut-Alkali mit Nähragar gebrauchsfertig, sondern eignet sich erst nach 24 Stunden zur Kultur,

2) Die alkalische Blutmischung ändert sich beim längeren Aufheben.

Im Anfang ist diese Aenderung vorteilhaft, da die ältere Mischung, mit Nähragar in Schalen gegossen, Platten geben kann, welche sofort gebrauchsfertig sind. Beim längeren Aufheben und mehrmaligen Aufkochen verliert die Mischung aber ihre wichtigste Eigenschaft, d. h. sie vermag dann das Wachstum der Coli-Bakterien nicht mehr zu verhindern.

Mancher, der die Vorteile von Dieudonnés Agar kennen lernte, hat schon versucht, diese beiden Nachteile zu überwinden; wir möchten nur Pilon erwähnen, der sich im Amsterdamer Hygienischen Institut mit dieser Frage beschäftigt hat.

Pilon hat nachgewiesen, 1) daß, wenn man die frischen Dieudonné-Platten in eine Kohlensäureatmosphäre stellt, sie nicht erst nach 24 Stunden, sondern schon nach 1 Stunde gebrauchsfertig sind;

2) daß, wenn man, statt Kalilauge, Natriumkarbonat mit dem Blute mischt, man einen sofort gebrauchsfertigen Nährboden bekommt.

Leider ist die Pilsborsche Blutsodamischung nicht haltbar, so daß sie nur einen der beiden mit dem Dieudonné-Agar verbundenen Nachteile aufhebt.

Wir haben daher danach gestrebt, einen Blut-Alkaliagar zu bereiten, welcher sehr lange haltbar ist bei sofort gebrauchsfertigem Zustande. Ausgehend von der Erfahrung, daß eine gewisse Blut-Alkalimischung für einen gewissen Augenblick sofort brauchbar sein kann und zu gleicher Zeit im vollen Besitz ihrer Elektivität, haben wir, uns stützend auf die Versuche von Pilon über den Einfluß der Kohlensäure, versucht, diesen Zustand festzuhalten, und zwar dadurch, daß wir die Blut-Alkalimischung mit Paraffinum liquidum von der Kohlensäure der Luft abschließen.

Tatsächlich gelingt es auf diese Weise, Dieudonné's alkalische Blutmischungen längere Zeit (soweit wir bis jetzt wissen, über 10 Monate) ohne Schaden für die Elektivität zu erhalten, während Kontrollmischungen (ohne Paraffinum liquidum und dann und wann geschüttelt) früher oder später die Coli-Bakterien üppig gedeihen lassen.

Es stellte sich dabei heraus, daß man den Augenblick der sofortigen Gebrauchsfertigkeit einer gewissen Mischung nicht zu bestimmen braucht, bevor man sie mit dem Paraffinum liquidum abschließt: Die frisch bereitete Blut-Alkalimischung kann man gleich mit Paraffin überschichten; nach 7—14 Tagen wird sie mit Nähragar Platten liefern, welche zur Kultur der Cholera vibrios sofort geeignet sind. Sie behält von diesem Augenblick an mit ihrer sofortigen Gebrauchsfertigkeit auch ihre Elektivität.

Die praktische Bedeutung dieser Erfahrung ist, daß man im Laboratorium jetzt eine Anzahl Kolben mit alkalischer Blutmischung, unter Paraffinum liquidum abgeschlossen, aufheben kann, um in cholerafreien Zeiten bei verdächtigen „ersten Fällen“ über sofort gebrauchsfertigen Dieudonné-Agar zu verfügen. Auch in Cholerazeiten, bei plötzlich notwendigen Massenuntersuchungen im Hafenlaboratorium oder in der Quarantänestation, kann ein größerer Vorrat sofort gebrauchsfertiger Blut-Alkalimischung von Nutzen sein. (G.C.)

Oktober 1917.

### Inhalt.

**Ditthorn, Fritz**, Ueber ein neues wasserlösliches Kresolpräparat „Fawestol“, S. 374.

**Ihle, J. E. W.**, Strongyloides *Westeri* n. sp., S. 372.

**Kraus, Erik Joh.**, u. **Klaften, E.**, Zur Kenntnis der Bakterien der „Faecalis-Gruppe“, S. 291.

**Kreßler, A.**, Hefeextraktnährböden, S. 380.

**van Loghem, J. J.**, u. **Nieuwenhuijse, J.**, Paraffinum liquidum zur Erhaltung von Dieudonné's Blut-Alkali-Mischung, S. 383.

**Meggendorfer**, Ueber eine abgeschlossene Choleraepidemie mit zahlreichen Mischinfektionen, S. 273.

**Oettinger, W.**, Zur Praxis und Theorie der Weil-Felix'schen Reaktion, S. 304.

**Paul, Gustav**, Ueber Mischinfektionen auf der Kaninchenhornhaut bei der experimentellen Pockenepitheliose, S. 361.

**Trawinski, Alfred**, Zur Morphologie und Biologie des *Bacillus suipestifer*, S. 339.

**Wester, J.**, Ein neuer Strongyloides bei Füllen, S. 370.

**Zschiesche, A.**, Beitrag zur Kenntnis der durch Erreger der Paratyphus-Gärtner-Gruppe hervorgerufenen Darmerkrankungen (Paracolibazillose) der Kälber, S. 350.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 80. Heft 7.

Ausgegeben am 28. Februar 1918.

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien.

### VI. Mitteilung: Variabilität in der Typhus-Coli-Gruppe.

[Aus dem k. u. k. bakteriologischen Feldlaboratorium No. 79 in Tarnow.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**,

k. k. Oberarzt, Vorstand des Laboratoriums.

Mit 3 Tafeln.

In Fortsetzung früherer Untersuchungen, die in 5 Mitteilungen in dieser Zeitschrift niedergelegt wurden, habe ich die Veränderlichkeit des *B. coli* in Angriff genommen und daneben auch noch einige Beobachtungen über andere Bakterienarten gesammelt, die hier anhangsweise Platz finden sollen. Ähnlich wie bereits früher, wurden teils diejenigen Variationen verfolgt, die „spontan“ in gewöhnlichen Kulturen, besonders beim Altern, zutage treten, zum Teil aber wurde versucht, durch Einwirkung dysgenetischer Faktoren, besonders von Farbstoffzusätzen, solche Veränderungen hervorzurufen.

Zuerst will ich über die Ergebnisse mit 2 *Coli mutabile*-Stämmen berichten, die ich unter 5 selbstgezüchteten Stämmen eingehender beobachtet habe. Es erschien mir sozusagen als eine Ehrenpflicht eines Variabilitätsforschers, dieses historisch wichtige und vielumstrittene Forschungsobjekt aus eigener Anschauung kennen zu lernen. Die Mehrzahl der Fortzüchtungen erfolgte auf Endo-Agarplatten, nur selten unterbrochen von Ausflügen auf Malachitgrün- oder Fuchsinagar, oder Aussaaten in Bouillon und in Spezialnährböden. Auch beziehen sich die meisten Beschreibungen der Kulturmorphologie auf oberflächliche Endo-Aussaaten. Zumeist wurden die Uebertragungen nach 2-tägiger Bebrütung der Platten bei 37° C vorgenommen, und zwar immer von sorgfältig ausgewählten Einzelkolonien. Es ist merkwürdig und für die Plastizität der Bakterien recht charakteristisch, wie bereits kleine Abweichungen in der Methodik sich in den Resultaten stark bemerkbar machen. Eine Ueberimpfung nach 4, statt nach 2 Tagen, ist bereits imstande, eine kleine Revolution unter den beobachteten Typen hervorzurufen, ebenso z. B. die vorübergehende Benutzung von Blutwasser- statt Fleischwasseragar. Die Beobachtung der Plattenaussaaten erfolgte nach 2- sowie nach 4-tägiger Bebrütung bei 37°; sodann wurden dieselben bei Zimmertemperatur mehrere Wochen lang belassen und nach dieser Zeit nochmals kontrolliert, was, ebenso wie bei der Cholera (s. II. Mitteilung), oft noch recht interessante Aufschlüsse bot. Wie bereits in früheren Untersuchungen, so zeigte sich auch in den vorliegenden, daß, „je eingehender und länger man sich mit einem Stamm befaßt, je mehr verschiedene Daseinsbedingungen bzw. Reize man auf ihn einwirken



läßt, desto mannigfaltiger auch sein Variationsbild wird, desto mehr latente Potenzen sein Genoplasma offenbart“.

### **Coli mutabile No. 4032.**

Aus einem typhusverdächtigen Stuhl gezüchtet, wo er fast in Reinkultur vorlag, zeigte dieser Stamm die bekannten Eigenschaften der scheinbar sprunghaften Variabilität in sehr prägnanter Weise. Ein Laktose-Nutroseröhrchen, mit der umschlagsfähigen („weißen“) Form beimpft, zeigt nach 12-stündiger Bebrütung keine Veränderung, nach 24 Stunden Rötung, nach 36 Stunden starke Opaleszenz, nach 60 Stunden Gerinnung, während die Probe mit der umgeschlagenen („roten“) Form nach 12 Stunden bereits Rötung und Opaleszenz, nach 24 Stunden aber Gerinnung aufweist. In Bestätigung anderweitiger Angaben (Klein) erwies sich bereits 1 Prom. Laktosezusatz als genügend zur Erregung des Umschlags, Traubenzuckerzusatz von 0,5 bis 3 Proz. zum Endo-Agar unterdrückte die Knopfbildung. Von den zur Beobachtung gelangten Formen sollen hier nur diejenigen Erwähnung finden, die sich als genügend konstant und deutlich different erwiesen haben. Eine Schilderung aller kleinen, oft launenhaften und vorübergehenden Abweichungen, wie sie in den mehr als 100 Generationen immer wieder auftraten, würde eine große Meisterschaft der Feder erfordern und weit über die Rahmen dieser Mitteilung hinausführen.

Die beobachteten Variationen erstreckten sich auf folgende Merkmale:

#### **I. Das Laktosespaltungsvermögen: hier hätten wir:**

- 1) die umschlagsfähige („weiße“) Form, auf Endo farblos, knopfbildend,
- 2) die umgeschlagene („rote“) Form, auf Endo tiefrot mit Fuchsin-glanz,
- 3) umgeschlagene, ausgeartete („rote farblose“) Form, von der vorigen abgeleitet unter Verlust des Laktosespaltungsvermögens, unter gewöhnlichen Bedingungen nicht mehr umschlagsfähig.

#### **II. Das Umschlagsvermögen: die Variationen betreffen natürlich nur die Form I 1:**

- 1) voll, mit frühzeitiger, reichlicher Knopfbildung,
- 2) abgeschwächt, mit verspäteter, spärlicher Knopfbildung.

#### **III. Das Wachstumstempo, gekennzeichnet durch die nach einer bestimmten Zeit erreichbare Koloniengröße:**

- 1) normal,
- 2) gehemmt,
- 3) stark gehemmt („Zwergform“).

#### **IV. Die Konsistenz und Oberflächenbeschaffenheit der Kolonien, bedingt durch die Beschaffenheit und den Stoffwechsel der Einzelkeime:**

- 1) glatte, halb durchscheinende Normalform,
- 2) chagrinierte, halb durchscheinende Form,
- 3) gerippte, undurchsichtige Form,
- 4) filzige, undurchsichtige Form,

- 5) schleimige, halb durchscheinende Form,
- 6) glatte, durchsichtige Form.

Von den durch Kombination der verschiedenen Variationsmöglichkeiten erhältlichen 72 verschiedenen Variationsformen<sup>1)</sup> ist nur ungefähr der 4. Teil tatsächlich zur Beobachtung gekommen — vielleicht infolge nicht lange genug ausgedehnter Beobachtungszeit, zum Teil auch, weil nicht alle vielleicht genügend ausgeprägt sind. Und nun wollen wir die beobachteten Formen an uns vorbeiziehen lassen:

#### A. Umschlagsfähige Formen:

1) Normalgroße, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige Form (s. Fig. 33, 57, 58, 59, 63). Auf Endo nach 4-tägiger Bebrütung bei 37° C rundliche, flach erhabene, glatte, halb durchscheinende, blaßrosa gefärbte Kolonien von 8–12 mm Durchmesser mit zahlreichen rötlichen bis schwarzroten, kleineren und größeren Knöpfen.

2) Halb durchscheinende, spät umschlagende Zwergform (s. Fig. 34, 61, 70). Auf Endo nach 4-tägiger Bebrütung sind gut isolierte Kolonien, flach erhaben, halb durchscheinend, farblos bis blaßrosa, rundlich, glatt von 2–3 mm Durchmesser, zum Teil ohne Knöpfe, zum Teil mit spärlichen rötlichen Knöpfen. Die Knöpfe pflegen erst im Laufe des 3. und 4. Tages sichtbar zu werden. Ab und zu (nicht in jeder Aussaat) treten vereinzelte Kolonien der ersten Form als Rückschläge auf, besonders bei Aussaat älterer Kulturen der zweiten Form. Das Knopfbildungsvermögen dieser Form zeigt, wie auch sonst vielfach, Abhängigkeit von den Kulturbedingungen. Wo die Impfstriche einen zusammenhängenden Belag bilden, sieht man meist spärliche Knöpfe, ebenso an dicht gesäten, konfluierenden Einzelkolonien — viele davon bleiben knopffrei — erst gut isolierte, voll ausgebildete Kolonien zeigen je einige Knöpfe. Einigemal wurde auch die interessante Beobachtung gemacht, daß rings um gewisse zufällige Verunreinigungscolonien eine verstärkte Knopfbildung erfolgte, sei es als Folge des Konkurrenzreizes, der zu einer besseren Ausnutzung des dargebotenen Zuckers zwang, sei es infolge gewisser, von der Verunreinigung stammender Reizstoffe. Mehrfach zeigte auch der Rückschlag zur Normalform eine Abhängigkeit von der Lage bzw. Ernährung der Kolonien, indem er fast nur in jenen Partien der Impfstriche beobachtet wurde, wo dieselben an den Rand der Platte herankamen (s. Fig. 61). Hier scheinen die Ernährungsverhältnisse besser zu sein, oder es gibt vielleicht die Austrocknung des Nährbodens einen Umwandlungsreiz ab. Die 2. Form trat zuerst auf in der Aussaat einer 33-tägigen Kultur der ersten Form auf Agar mit 1 Prom. Fuchsinzusatz. Beide Formen erwiesen sich in 40 sukzessiven Generationen als konstant.

3) Gehemmte, halb durchscheinende, spät umschlagende Formen. Erreichen nach 4-tägiger Bebrütung nur 4–6 mm Durchmesser, gute Isolierung der Kolonien vorausgesetzt. Knötchen erscheinen später als bei der ersten Form (dort meist bereits nach 24 Stunden sichtbar, hier erst nach 48 Stunden auftretend); sie sind spärlicher und weniger entwickelt. Diese Form ist in der 23. Generation

---

1) Ich spreche jetzt nicht mehr von Mutanten, sondern von Varianten oder Formen, um die entscheidende Frage der Reversibilität der Veränderungen nicht vorweg zu entscheiden.

von der vorhergehenden abgespalten worden. In fast jeder Generation werden von ihr Normalkolonien abgespalten, die ganz mit der sub 1) beschriebenen übereinstimmen, nur dadurch von ihr sich unterscheiden, daß sie immer wieder die sub 3) geschilderte gehemmte Form abspalten. Diese

4) normal große, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige Form bildet also zusammen mit der vorigen ein Paar „ständig umschlagender“ Formen.

Dieses Formenpaar wurde in 76 Generationen als konstant befunden.

5) Normal große, halb durchscheinende, chagrinierte Form mit abgeschwächtem Umschlagsvermögen (s. Fig. 58, 59). Auf Endo nach 4 Tagen normal große, flach erhabene, leicht chagrinierte, blaßrosa Kolonien von 8—12 mm Durchmesser mit weniger zahlreichen, undeutlichen, verwaschenen, rötlichen Knöpfen. Diese erscheinen später als bei der Normalform (1), bleiben meist auch kleiner, sie sind spärlich auf gut isolierten Kolonien, zahlreicher und besser ausgebildet im Belag (Reizwirkung der Konkurrenz!). Abgespalten von der Normalform in der 30. Generation, in 40 Generationen haltbar. In späteren Generationen ist mehrfach eine eigentümliche Anpassungsform an die Laktose beobachtet worden, indem die Kolonien diffus dunkelrosa bis rot gefärbt erscheinen, so daß man im Zweifel sein konnte, ob nicht eine abgeschwächte „rote“ Form vorliegt, wenn nicht die dann meist blaßrosa sich abhebenden Knöpfe für die Zugehörigkeit der Form sprechen würden. Also eine allmähliche allgemeine (jedoch nicht konstant fortschreitende!) Anpassung neben der sprungweisen, durch Knopfbildung sich kundgebenden.

6) Normal große, durchsichtige, glatte Form mit abgeschwächtem Umschlagsvermögen (s. Fig. 67). Nach 4 Tagen auf Endo normal große, flache, durchsichtige, blaßrosa Kolonien von 8—12 mm Durchmesser mit wenig zahlreichen rötlichen bis roten Knöpfen. Zweimal von der Normalform abgespalten, in 30 Generationen unverändert fortgezüchtet. Im Laktose - Nutroseröhrchen zeigen die beschriebenen Formen folgende Differenzen: Form 1 und 4 nach 24 Stunden Rötung, nach 36 Stunden starke Opaleszenz, nach 60 Stunden Gerinnung, Form 2 und 3 bis 108 Stunden unverändert, nach 132 Stunden rotviolett, nach 180 Stunden rot, Form 5 bis 60 Stunden unverändert, nach 84 Stunden rotviolett, nach 180 Stunden rot, Form 6 bis 36 Stunden unverändert, nach 60 Stunden rotviolett, nach 108 Stunden rot, nach 180 Stunden Spur von Opaleszenz.

7) Normal große, durchscheinende, glatte, voll umschlagsfähige Form mit schleimigen Knöpfen (s. Fig. 65). Nach 4 Tagen normal große, flach erhabene, durchscheinende, flache, rosa bis dunkelrosa Kolonien von 8—12 mm Durchmesser, mit aufgeworfenen, schleimigen Randwällen, mit zahlreichen kleinen, farblosen, zum Teil schleimigen Knötchen, die in der Mitte der Kolonie zu einer unregelmäßig lappig begrenzten, kuppelförmigen, schleimigen Auflagerung zusammenfließen. Die Knöpfe bedeuten nur zum Teil einen Umschlag in die rote Form, zum Teil aber, und zwar die schleimigen, bedeuten sie die Abspaltung der nächstfolgenden schleimigen, weißen Form. Entstanden aus der vorhergehenden, in 24 Generationen unverändert fortgezüchtet.

8) Normalgroße, durchscheinende, schleimige, voll umschlagsfähige Form. Nach 4 Tagen normalgroße, rundliche, flach kuppelförmige, glatte, schleimige, farblose bis blaßrosa, mit dunkel-rosa bis schwarzroten Sprenkeln (durchscheinenden Knöpfen), von 8 mm Durchmesser. Ältere Kolonien umgeben sich mit einem farblosen, erhabenen Schleimwall, während das Zentrum durch Eintrocknung sich abflacht. Entstand aus der vorigen Abart; in 22 Generationen konstant befunden.

#### B. Umgeschlagene Formen.

9) Normalgroße, halb durchscheinende, glatte, rote Form. Auf Endo nach 4 Tagen normalgroße, rundliche, glatte, schwarzrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von ca. 8—10 mm Durchmesser. Ist das Laktosespaltungsvermögen besonders stark, so haben die Kolonien einen schwarz-blauroten Ton, wahrscheinlich infolge der Einwirkung der (aus der Laktose abgespaltenen) Aldehyde auf das Fuchsin. In 40 Generationen stabil (s. Fig. 69).

10) Gehemmte, halb durchscheinende, glatte, rote Form. Nach 4 Tagen auf Endo flach erhabene, rundliche, glatte Kolonien von 2—3 mm Durchmesser, schwarzrot mit Fuchsinglanz. Durch Umschlag entstanden aus der sub 2) genannten „weißen“ Zwergform sowie aus der roten Normalform 9 auf 1 prom. Fuchsinagar nach 33 Tagen, hat sich 40 Generationen lang unverändert gehalten, speziell keinen Rückschlag in die rote Normalform 9 gezeigt.

11) Halb durchscheinende, glatte, rote Zwergform (s. Fig. 69). Nach 4 Tagen kleine, knopfförmig vorspringende, glatte, schwarzrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von 1—1,5 mm Durchmesser. Das Laktosespaltungsvermögen stark ausgesprochen, indem im Laktose-Nutroseröhrchen, trotz der Wachstumshemmung, bereits nach 44 Stunden Gerinnung eintritt (nach 24 Stunden bei der roten Normalform!). Beim Weiterwachsen bei Zimmertemperatur umgibt sich die Kolonie mit einem erhabenen, farblosen bis rötlichen, aufgeworfenen, schleimigen Wall, von dem aus die schwarzrot gewordene Platte stark reduziert wird. Diese Abart ist aus der roten Normalform 9 auf Agar mit Malachitgrün (Krist. extra chem. reines Oxalat f. fotogr. Zwecke, Höchst)  $\frac{1}{2500}$  nach 2 Monaten entstanden. Auf diesem Agar wuchs die Normalform, wie das sehr oft bei Coli und anderen Bakterienarten dieser Gruppe der Fall ist, in zweierlei Kolonien und zwar von größeren, blattförmigen, opaken und von kleinen, knopfförmigen, durchscheinenden. Merkwürdigerweise ergab nun die Aussaat der großen Kolonien die soeben beschriebene Zwergform, diejenige der kleinen die unveränderte, große Normalform. Die Anpassung an das Malachitgrün also, die sich durch üppiges Wachstum kundgegeben hatte, war offenbar durch Veränderungen erkaufte, die bei Rückkehr auf den Endo-Nährboden eine Wachstumshemmung bedingten, dagegen gediehen diejenigen Keime, die sich später als unverändert erwiesen, auf dem Malachitgrünagar, weil nicht angepaßt, nur in kümmerlicher Weise. In den Aussaaten der hier beschriebenen Zwergform findet man öfters, aber nicht in jeder Generation, spärliche Kolonien der roten Normalform (11a) als Ausdruck eines Rückschlages. Die Konstanz dieser Form wurde in 77 Generationen verfolgt. Im mikroskopischen Bilde findet man öfters die bei Form 15 noch genauer zu beschreibenden Fuchsineinschlüsse in den Stäbchen.

12) Normalgroße, halb durchscheinende, chagrinierte, rote Form (s. Fig. 60). Nach 4 Tagen große, flache, leicht gezacktrandige, rote bis tiefrote Kolonien mit oder ohne Fuchsinglanz, von rauher, fein chagriniert Oberfläche, von 10—12 mm Durchmesser (etwas größer als die glatte Normalform 9). Entstanden aus der glatten Normalform, schlägt in dieselbe öfters zurück, 40 Generationen lang fortgezüchtet. Fig. 60 zeigt an dieser Form eine auch sonst öfters beobachtete Erscheinung, die Knopfbildung roter Kolonien, die aber nicht etwa einen Rückschlag zur weißen Ausgangsform bedeutet, da die Aussaat aus den Knöpfen nur den Muttertypus reproduziert. Am Rande der Kolonie konfluieren die Knöpfe allmählich zu einem Schleimwall (s. auch Fig. 20).

13) Undurchsichtige, normalgroße, gerippte, rote Form. Nach 4 Tagen normalgroße, flach erhabene, undurchsichtige, tiefrote Kolonien mit oder ohne Fuchsinglanz, mit rauher, chagriniert Oberfläche, von 8—12 mm Durchmesser. Gut isolierte Kolonien und nur diese weisen (auch nicht alle voll ausgebildet) unregelmäßig radiär angeordnete, verzweigte, rippenförmige Erhebungen auf. Morphologisch erscheint diese Form als Fortentwicklung der vorhergehenden. Entstanden durch eine 2-malige, je 2-monatliche Passage der roten Normalform 9 über Malachitgrünagar ( $1/5000$ ). Wurde 30 Generationen lang fortgezüchtet, wobei das spezifische Merkmal der gerippten Oberfläche in den späteren Generationen erheblich nachließ. An den Kolonien erschienen öfters schleimige Randauswüchse, deren Fortzucht jedoch keine schleimige Abart ergab.

14) Gehemmte, halb durchscheinende, schleimige, rote Form. Nach 4 Tagen mäßig große, erhabene, flach kuppelförmige, runde, halb durchscheinende, feuchte, schleimige, tiefrote Kolonien mit oder ohne Fuchsinglanz, von 3—4 mm Durchmesser. Das Laktosespalungsvermögen ist etwas herabgesetzt, indem zwar bereits nach 24 Stunden Rötung eintritt, aber selbst nach 180 Stunden keine Gerinnung, sondern nur schwache bis starke Opaleszenz beobachtet wird. Einigemal unter den Nachkommen der Zwergform 11 aufgetreten, in jeder Generation werden in größerer oder geringerer Anzahl solche Zwergformen abgespalten als Rückschlagserscheinungen. In 53 Generationen unverändert fortgezüchtet; vielleicht steigt die Rückschlagstendenz bei der Fortzucht, auch wird der Schleim weniger konsistent und neigt zum vorzeitigen Eintrocknen, wodurch geschrumpfte und gefaltete Kolonien entstehen.

15) Gehemmte, undurchsichtige, verfilzte, rote Form. Nach 4 Tagen mäßig große, flach erhabene, undurchsichtige, leicht gezacktrandige, chagrinierte, tief mattrote Kolonien ohne Fuchsinglanz, von 3—4 mm Durchmesser. Die Konsistenz der Kolonien ist eine zähe, filzige; sie lassen sich nur schwer zu Bröckeln verteilen. Im mikroskopischen Bilde sieht man neben kurzen, plumpen Normalformen alle Uebergänge bis zu langen (15—20  $\mu$ ), schlangenförmigen, leicht geblähten Gebilden mit einem oder mehreren, kleineren oder größeren, schwarz-roten Fuchsinkügelchen, wie seinerseits Vay sie bei *B. coli* auf farbstoffhaltigen Nährböden erhalten hat (s. Fig. 7). Es macht den Eindruck, daß entweder eine überstürzte Laktosezersetzung mit Bildung von Aldehyd-Fuchsinderivaten vorliegt, die schädigend auf die Bakterien einwirken, oder daß eine besondere Empfindlichkeit gegenüber diesen Derivaten vorliegt. Im Laktose-Nutroseröhrchen finden wir bereits nach

12 Stunden Rötung und Opaleszenz, nach 84 Stunden starke Opaleszenz, doch selbst nach 180 Stunden keine Gerinnung, was für die erste, soeben erwähnte Eventualität sprechen würde. Damit würde auch übereinstimmen die Beobachtung, daß öfters an den Rändern der Kolonien dünnere, flache, durchscheinende, farblose, keilförmige Auswüchse erscheinen, also gewissermaßen als Abwehr gegen die Fuchsinvergiftung (oder als Folge derselben?) eine Einstellung der Laktosespaltung. Beim Fortzüchten erweisen sich diese Auswüchse nicht als vererbare Abweichungen. Die Form 15 ist entstanden aus einer 2-monatlichen Malachitgrünagarkultur ( $\frac{1}{5000}$ ) der roten Normalform 9; sie hielt sich in 60 Generationen unverändert.

16) Normalgroße, durchsichtige, glatte, rote Form. Nach 4 Tagen normalgroße, flach erhabene, lappig begrenzte, glatte, tiefroten Kolonien mit Fuchsinglanz, mit durchsichtigen Randpartien, von 8–10 mm Durchmesser. Entstanden durch Umschlag aus der sub 6) angeführten, durchsichtigen, weißen Form, in 30 Generationen fortgezüchtet.

17) Normalgroße, durchscheinende, glatte, farblose Form. Nach 4 Tagen normalgroße, flach erhabene, rundliche, glatte, farblose bis blaßrosa (allmählich bis dunkelrosa) Kolonien von 8–10 mm Durchmesser, ohne Knöpfe. An älteren Kolonien, die allmählich sehr schwach sich röten, entstehen farblose, kleine, zum Teil schleimige Randauswüchse, die bei Fortzüchtung nur den Muttertypus wiederholen. Entstanden aus der roten Normalform 6, in 30 Generationen konstant befunden. Nur dreimal wurde ein Rückschlag zur roten Normalform 9 beobachtet. Diese Form ist interessant, weil sie zeigt, wie schwer ein Rückschlag der roten Form in die umschlagsfähige weiße zu erzielen ist. Durch Einbuße des Laktosespaltungsvermögens entstand bei uns keine weiße, umschlagsfähige Form, sondern ein „Paracoli“, dessen Rückkehr zur Mutterform wieder in Form eines einfachen Sprunges, nicht aber der Knopfmuation, erfolgte. Im Laktose-Nutroserröhrchen keine Anzeichen der Laktosespaltung, dagegen nach 68 Stunden Blaufärbung. Es kann also unter Umständen ein *B. coli mutabile* Paratyphus B-ähnlich werden, um so mehr noch, wenn es z. B. hohe Paragglutination mit Paratyphus B-Serum aufweist. Einige solche Stämme hat in dem von mir geleiteten Laboratorium Fr. Dr. T. Rapoport isoliert und untersucht, auch Baerthlein hat neuerdings solche beschrieben.

Ein interessantes Ergebnis gaben Agglutinationsversuche mit einem Kaninchenimmunserum, das mit der weißen Normalform 1 gewonnen wurde. Diese Form, ebenso wie die rote Normalform 9, wurden von dem Serum gleichmäßig bis  $\frac{1}{4000}$  agglutiniert, die weiße Zwergform 2 bis  $\frac{1}{80}$  (bei  $\frac{1}{250}$  Spuren), die rote Zwergform 10 bis  $\frac{1}{160}$  (bei  $\frac{1}{250}$  Spuren). Merkwürdigerweise wurden die durch Malachitgrünagarpassage entstandenen roten Formen 11 und 11a, die normale und die gehemmte, von diesem Serum selbst bei  $\frac{1}{10}$  gar nicht agglutiniert; es scheint demnach das Malachitgrün eine Zustandsspezifität bewirkt zu haben, die diese Abarten gegen das Serum der Ausgangsform refraktär macht. Ähnliches beobachteten Altmann und Rauth bei Züchtung von *Coli* auf Phenolagar; es entstanden hier Abarten, die bei der Komplementbindung mit dem Serum des Ausgangsstammes teilweise oder gänzlich versagten.

**Coli mutabile No. 7257.**

Gezüchtet aus einem ruhrverdächtigen Stuhl, in dem es in großer Anzahl vorhanden war, zeigt es die bekannten Umschlagseigentümlichkeiten. Die Variationen betreffen:

**I. Das Laktosespaltungsvermögen:**

- 1) die weiße, umschlagsfähige Form,
- 2) die rote, umgeschlagene Form,
- 3) die umgeschlagene, ausgeartete („rote farblose“) Form.

**II. Das Umschlagsvermögen (nur bei der weißen Form):**

- 1) voll umschlagsfähige Form,
- 2) spät umschlagende Form.

**III. Das Wachstumstempo:**

- 1) normale Form,
- 2) gehemmte Form,
- 3) stark gehemmte Zwergform.

**IV. Die Konsistenz und Struktur der Kolonien:**

- 1) glatte Normalform,
- 2) chagrinierte Form,
- 3) durchsichtige Form,
- 4) schleimige Form.

Von den durch kombinierte Variation dieser Merkmale erhältlichen 48 verschiedenen Formen sind tatsächlich 15 beobachtet worden, also ungefähr ein Drittel. Hier eine ganz kurze Beschreibung der in 30–50 Generationen fortgezüchteten Abarten:

**A) Umschlagsfähige Formen:**

1) Normalgroße, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige, glatte Form (s. Fig. 44). Rundliche, flach erhabene, blaßrosa, glatte, halb durchscheinende Kolonien von 8–12 mm Durchmesser (gut isolierte!) mit zahlreichen kleinen und größeren, rötlichen bis schwarzroten Knöpfen.

2) Normalgroße, durchsichtige, spät umschlagende glatte Form. Rundliche, flach erhabene, blaßrosa bis rosa, glatte, durchsichtige Kolonien von 8–12 mm Durchmesser, mit wenigen kleinen, rötlichen Knöpfen. Entstanden aus der vorhergehenden, ab und zu schlägt sie in dieselbe zurück.

3) Normalgroße, halb umgeschlagene, spät umschlagende, durchsichtige, glatte Form (s. Fig. 5, 10, 13, 14, 18, 22, 64). Rundliche, flach erhabene, glatte, durchsichtige, normalgroße, rotviolette Kolonien von 8–10 mm Durchmesser, mit zahlreichen, kleinen, farblosen, seltener roten Knöpfen. Der Umschlag erfolgt also in dieser Form in zweierlei Weise: erstens allmählich in der Mehrzahl der Keime, wodurch die rotviolette Färbung der Kolonie zustande kommt, sodann aber in beschränktem Ausmaß in Form der Knopfmuation. Die Form ist ausgesprochen „rezessiv“, bei Aussaaten bekommt man eine überwiegende Mehrzahl der weißen Normalform 1 und nur wenige rotviolette Kolonien der Mutterform. Es scheint dabei eine Konkurrenz der Normalform mit der rotvioletten mit im Spiel zu sein, denn man sieht in solchen Aussaaten die rotvioletten nur an gut isolierten Stand-

orten sich entwickeln; wo die Kolonien dicht stehen und im konfluerten Belag sind sie kaum zu finden oder von ihren Nachbarn fast ganz unterdrückt. Ein Teil der Knöpfe (die farblosen?) scheint schon in der Mutterkolonie die Abspaltung der Normalform zu manifestieren. Die rotviolette Form ist mehrfach aus der vorhergehenden entstanden, jedesmal bot ihre lückenlose Fortzuchtung aus dem soeben erörterten Grunde manche Schwierigkeiten.

4) Gehemmte, halb durchscheinende, spät umschlagende, glatte Form (s. Fig. 24). Mäßig große, flach erhabene, halb durchscheinende, glatte, blaßrosa Kolonien mit wenigen rötlichen Knöpfen von 4–6 mm Durchmesser. Entstanden aus der Normalform 1 und zwar aus einer 3-monatlichen Agarkultur.

5) Halb durchscheinende, spät umschlagende, glatte Zwergform. Kleine, knopfförmige, halb durchscheinende, blaßrosa Kolonien von 2–3 mm Durchmesser mit seltenen kleinen, rötlichen Knöpfen. Entstanden aus einer 3-monatlichen Agarkultur der Normalform 1.

6) Entspricht ganz der sub 4) genannten Form, nur werden fast in jeder Aussaat zahlreiche Zwergformen (7) abgespalten (s. Fig. 56).

7) Entspricht ganz der sub 5 aufgeführten Form, nur werden fast in jeder Aussaat zahlreiche Kolonien des vorhergehenden Typus 6 abgespalten. Wir haben also wieder ein „ständig umschlagendes“ Paar vor uns, das sich von den entsprechenden Formen 4 und 5 nur durch die innewohnenden erblichen Potenzen, nicht aber durch den Habitus unterscheiden läßt. Zweimal entstand aus Form 4 (s. Fig. 56) eine

8) gehemmte, halb durchscheinende, spät umschlagende, chagrinierte Form; unterscheidet sich von Form 4 nur durch die rauhe, chagrinierte Oberfläche — im Laufe der Generationen verwischt sich allmählich dieses Merkmal, und die Form geht in die glatte Mutterform über. Oefers auch Rückschläge in dieselbe.

9) Gehemmte, durchsichtige, spät umschlagende, glatte Form; unterscheidet sich von Form 4 durch die durchsichtige Beschaffenheit der Kolonien, aus derselben auch entstanden, schlägt zuweilen in sie zurück.

10) Normalgroße, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige, schleimige, glatte Form (s. Fig. 27). Normalgroße, kuppelförmig gewölbte, zäh schleimige, farblose bis blaßrosarot gesprenkelte und geäderte schleimige Kolonien von 8–10 mm Durchmesser mit roten bis schwarzroten Knöpfen in der Tiefe. Mehrfach entstanden aus Form 3 und 4, spaltet zuweilen die Zwergform 5 ab.

#### B. Umgeschlagene Formen:

11) Normalgroße, halb durchscheinende, glatte, rote Form. Normalgroße, flach erhabene, rundliche, halb durchscheinende, glatte, schwarzrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von 10–14 mm Durchmesser. Die roten Kolonien sind hier meist etwas größer als die weißen. Offenbar gewährt ihnen die Laktosespaltung einen Vorsprung in der Entwicklung. Beim Mutabile-Stamm 4032 waren umgekehrt die weißen Kolonien meist etwas größer — vielleicht infolge der Hemmungswirkung des Aldehyd-Fuchsinderivates.

12) Gehemmte, halb durchscheinende, glatte rote Form, wie die vorhergehende, nur kleiner (4–6 mm Durchmesser); in fast



jeder Generation werden mehr oder minder zahlreiche Zwergformen (13) abgespalten.

13) Halb durchscheinende, glatte, rote, Zwergform, kleine, knopfförmig vorspringende, halb durchscheinende, runde, glatte, rote bis schwarzrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von 2—3 mm Durchmesser. In fast jeder Generation werden mehr oder minder zahlreiche Kolonien der vorhergehenden Form 12 abgespalten, also wieder ein Paar „ständig umschlagender“ Formen. Entstanden aus Form 11.

14) Durchsichtige, glatte, farblose Zwergform. Kleine, knopfförmige, blaßrosa, durchsichtige, glatte Kolonien von 2—3 mm Durchmesser. Entstanden aus einer alten Malachitgrünagarkultur ( $\frac{1}{5000}$ ) der roten Normalform 11.

15) Normalgroße, halb durchscheinende, schleimige, glatte, rote Form. Normalgroße, rundliche, kuppelförmig gewölbte, halb durchscheinende, glatte, schleimige, schwarzrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von 8—10 mm Durchmesser. Durch Umschlag entstanden aus der schleimigen weißen Form 10.

Ergänzungsweise sei noch bemerkt, daß auch bei diesem Stamm Zusatz von Traubenzucker 0,5–3,0 Proz. zum Laktoseagar die Knopfbildung der umschlagsfähigen Form unterdrückt und daß bei 3 Proz. Traubenzucker eine Wachstumshemmung zu beobachten ist. Dagegen ist auf einem reinen Laktoseagar (ohne reduziertes Fuchsin) die Knopfbildung reichlicher als auf dem gleich laktosehaltigen Endo-Agar, offenbar infolge einer Hemmung durch das reduzierte Fuchsin des Endo-Agars.

Außer den oben angeführten, schleimigen Hemmungs- und Zwergformen, die sich in längeren Generationsreihen als konstant erwiesen haben, sind vielfach derartige Formen ohne erbliche Konstanz in unseren Aussaaten aufgetreten.

#### Coli 8412.

Von einer jungen Agarkultur dieses normalen, auf Reinheit geprüften Coli-Stammes wurde auf Malachitgrünagarplatten  $\frac{1}{2500}$  sowie  $\frac{1}{10000}$  ausgesät. Diese Platten zeigten nach 2-tägigem Wachstum bei 37° C und einer Woche bei Zimmertemperatur wenige große Kolonien inmitten einer Mehrzahl von kleinen und kleinsten. Ueberimpft auf Endo-Platten, gaben die großen Kolonien wieder normalgroße, flach erhabene, halb durchscheinende, glatte, farblose bis blaßrosa Kolonien von 10—12 mm Durchmesser. Später umgeben sich diese Kolonien mit einem mehr oder minder mächtigen Schleimwall, reduzieren stark den Fuchsinfarbstoff in der Umgebung, der Agar wird um sie herum fein getrübt. Die kleinen Kolonien von den Malachitgrünagarplatten gaben auf der Endo-Platte etwas kleinere, erhabenere, weniger durchscheinende, leicht chagrinierte, schwarzrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von 5—8 mm Durchmesser, ohne nachträgliche Reduktion, ohne Schleimwallbildung und ohne Trübung des Agars. Die farblose Abart gibt im Laktose-Nutroserröhrchen auch nach 5 Tagen keine Veränderung, die rote dagegen Rötung und Gerinnung bereits nach 18 Stunden. Im Rothberger-Agar gibt die farblose nach 18 Stunden starke Reduktion und Gasbildung, die andere läßt ihn einige Tage lang unverändert. Auf gewöhnlichem Agar sowie auf Malachitgrünagar wächst die farblose Form in schleimi-gkuppelförmigen Kolonien, die rote in flachen. Wir sehen also wieder (ebenso wie oben beim Coli mutabile No. 4032),

daß die Anpassung an das Malachitgrün, die sich durch das Heranwachsen großer Kolonien kundgibt, von einem Verlust des Laktose-spaltungsvermögens gefolgt ist, während die nicht angepaßte Form (daher kleine Kolonien!) dasselbe voll beibehalten hat. Umgekehrt verfügt die erste Abart über ein erhöhtes Reduktionsvermögen (damit scheint auch die Schleimhautbildung irgendwie zusammenzuhängen), welches bekanntlich ein gutes Abwehrmittel gegenüber der Farbstoffwirkung darstellt, sowie über das Traubenzucker-Spaltungsvermögen, welches der zweiten Abart abgeht. Ein Kaninchenimmunserum, hergestellt mit der farblosen Form, agglutiniert dieselbe bis  $\frac{1}{800}$ , während die andere selbst bei  $\frac{1}{20}$  versagt. Wir haben also wieder eine besondere Spezifität der agglutinablen Substanz vor uns, bedingt durch die Malachitgrünanpassung. Dieselbe geht so weit, daß, wie der Agglutininabsorptionsversuch zeigt, die Agglutinine dieses Serums von der roten Abart nicht gebunden werden. Hervorzuheben wäre noch die Tatsache, daß dieselbe Spaltung des Stammes sowohl auf der Platte mit stärkerem als auch mit schwächerem Malachitgrünzusatz erfolgt ist. Die Konstanz der erhaltenen Formen wurde in 40 Endo-Passagen festgestellt. Auch eine 16-tägige Bebrütung in Bouillon bei  $37^{\circ}$  (ohne Umzüchtung) hat dieselbe intakt gelassen.

#### Petrolätherversuche.

Anlässlich von Nachprüfungen des Bierastschen Petrolätherversfahrens wurden 1-tägige Bouillonkulturen von 3 geprüften normalen Coli-Stämmen (No. 2, 3 und 23), mit der gleichen Menge Petroläther versetzt, 2mal je 4 Minuten mit einem Intervall von 15 Minuten tüchtig durchgeschüttelt und sodann nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden auf Endo-Platten ausgesät. Während Kontrollplatten, wie zu erwarten stand, lauter fuchsinrote Kolonien aufgehen ließen, zeigten die Aussaaten der geschüttelten Proben: Coli No. 2: 115 fuchsinrote, 6 farblose; Coli No. 3: 199 fuchsinrote, 4 farblose; Coli No. 23: 13 fuchsinrote, 3 große farblose, 5 kleine farblose. Die Fortzüchtung der roten und farblosen Abarten ergab in 20 Generationen eine volle Konstanz derselben. Wir sehen also, daß selbst eine kurzdauernde Einwirkung des Petroläthers (die übrigens bei längerer Einwirkung Coli, Typhus und Paratyphus abzutöten vermag!) ein wichtiges biochemisches Merkmal des B. coli zum Verschwinden bringen kann, wenigstens für die Dauer von 20 Generationen. Dies ist um so auffallender, als in diesen 20 Generationen immer der spezifische Reiz des Milchzuckers auf die neuen Abarten eingewirkt hat. Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß die farblosen Abarten aller 3 Stämme immer mehr oder weniger ausgebildete, farblose bis rosa gefärbte Knöpfe aufwiesen, die jedoch keine rote Nachkommenschaft gaben und deren biologische Bedeutung nicht hat eruiert werden können. (Auch Heyn erwähnt nebenbei die herabgesetzte Säurebildung bei Coli nach Petroläthereinwirkung.)

#### Coli E und 1286.

Während wir bis jetzt die farblosen Abarten unter dem Einfluß von Malachitgrün bzw. Petroläther, also von schädigenden „unnatürlichen“ Agentien entstehen sahen, werden wir beim Coli E den Fall kennen lernen, wo sie sozusagen spontan aufgetreten sind. Aus einem schleimig-diarrhoischen Stuhl wuchsen auf Endo-Platten aus einer Schleimflocke neben einer Mehrzahl rötlicher, aufgefaserter, leicht gezacktrandiger

Kolonien wenige runde, glatte, dunkelviolettblauschwarze mit farblosem Saum. Während die Ueberimpfung der ersteren normale, fuchsinrote Kolonien ergab, die sich auch weiterhin unverändert fortzüchten ließen, überraschte die Umzüchtung der violett-blauschwarzen, indem durchscheinende, farblose (blaßrosa bis rosa gefärbte), glatte Kolonien mit kleinen, farblosen Knöpfen aufgingen, die auch in weiteren 20 Generationen sich konstant hielten. Nur eine von den 4 überimpften, violett-blauschwarzen Kolonien spaltete in den ersten Generationen normale, rote Kolonien neben einer Ueberszahl von farblosen ab. Die Erklärung dieses auffallenden Umschlages ist vielleicht in der Tatsache zu suchen, daß infolge überstürzter Laktosespaltung eine große Menge der Aldehyd-Fuchsinverbindung frei wird (daher die eigenartige Färbung der Kolonien!), die die Keime schädigt und ihnen das Laktosespaltungsvermögen raubt. Im mikroskopischen Bilde waren die Stäbchen der farblosen Abart klein und dünn, diejenigen der roten Normalform länger und dicker mit Neigung zu Fadenbildung. Eine ähnliche Spaltung in eine farblose und eine rote Form aus einer blau-schwarzroten Kolonie gab ein anderer, direkt aus einem typhusverdächtigen Stuhl gezüchteter Coli-Stamm No. 1286. Auch hier bestanden beide Formen die Prüfung von 20 Umzüchtungen.

#### Paracoli No. 298.

Interessante, aber etwas verwickelte Verhältnisse boten 2, aus verdächtigen Stühlen gezüchtete Paracoli-Stämme. Das Paracoli No. 298 wächst in normalgroßen, flach erhabenen, durchscheinenden, farblosen bis blaßrosa, glatten Kolonien (s. Fig. 12). Ziemlich frühzeitig erscheinen auf denselben 2 Arten von Knöpfen, und zwar zahlreiche, kleine und kleinste, farblose, durchscheinende, dazwischen wenige größere, weißlich undurchsichtige, prominente, von denen manche (höchstens 1 bis 3 auf einer Platte) ein rotes bis schwarzrotes Zentrum aufweisen. Ab und zu sieht man einen solchen Knopf zu einem größeren, opaken Sektorauswuchs herauswachsen. Eine Fortzüchtung aus dieser Art von Knöpfen, die unschwer isoliert abzustechen sind, ergibt normalgroße, flach erhabene, glatte, schwarzrote Kolonien und Fuchsinglanz, die in weiteren Generationen (mehr als 30) sich als konstant erweisen (siehe Fig. 23). Die Aussaat, aus einer farblosen Kolonie, die nur kleine, durchscheinende Knöpfe, aber keine größeren, undurchsichtigen aufweist, ergibt wieder den Muttertypus (mehr als 30 Generationen); ist sie älter, so wachsen außer dem Muttertypus noch etwas kleinere, mehr gewölbte, saftige, durchsichtigere, rosa bis dunkelrosa gefärbte Kolonien, die später nur spärliche, kleine, farblose Knöpfe führen oder dieselben ganz vermissen lassen (in 30 Generationen konstant). Außer diesen 2 Formen sieht man noch in Aussaaten der farblosen — aber nicht in jeder — vereinzelte fuchsinrote Kolonien aufgehen, offenbar als Nachkommenschaft vereinzelter, umgestimmter Keime, die es nicht oder noch nicht zur Knopfbildung gebracht haben. Im Laktose-Nutroseröhrchen gibt die rote Form nach 24 Stunden Rötung und Gerinnung, während die farblose es wochenlang unverändert läßt. Ebenso wird Lackmusmolke nur von der ersten gerötet, dagegen wird Traubenzucker von beiden unter Gasbildung vergoren, Neutralrotagar reduziert. Um das Variationsbild zu vervollständigen, sei noch erwähnt, daß die rosafarbene, durchsichtige Form eine solche abgespalten hat, die einen kontinuierlichen, schleimigen, radiär gestreiften Randwall aufweist, oder einen Saum, in

dem durchsichtige, rosa Partien mit gestreiften, wallartigen, schleimigen abwechseln (s. Fig. 16). Die fuchsinrote umgeschlagene Form aber hat in der Folge eine chagrinierte, radiär gerippte, rote und eine schleimige, rote Form abgespalten. Zusammenfassend, kann man sagen, daß hier ein *Coli mutabile* vorliegt, jedoch mit ziemlich beschränktem Umschlagsvermögen, das sich durch die Bildung der größeren, undurchsichtigen Knöpfe kundgibt. Was die Bildung der anderen kleineren, durchsichtigeren Knöpfe bedeutet, konnte ich bis jetzt nicht eruieren, mit der Laktosespaltung hat sie Nichts zu tun, da sie auch auf gewöhnlichem Agar beobachtet werden kann. Es ist wahrscheinlich, daß diese Knopfbildung, wie auch sonst jede bisher beobachtete, mit irgendeinem Umschlag verbunden ist. Bei der Knopfbildung des Typhus auf Rhamnoseagar (Reiner Müller) ist eine biologische Bedeutung zwar nicht sicher festzustellen, aber wenigstens bleiben die aus den Knöpfen wachsenden Kolonien knopffrei. In unserem Falle dagegen konnte eine sicher knopffrei wachsende Form nicht erhalten werden — die rosafarbene, durchsichtige war nur knopffarm.

#### Paracoli No. 407.

Die Normalform wächst in normalgroßen, flach erhabenen, farblosen bis rosafarbenen, durchscheinenden, glatten Kolonien, die später zahlreiche, farblose bis rosafarbene Knöpfe bekommen (s. Fig. 17, 26). Ältere Kulturen geben bei der Aussaat neben der Mutterform normalgroße, stärker erhabene, weißliche, opake, leicht chagrinierte Kolonien, die später keine Knöpfe bekommen, mit aufgeworfenen, feuchten, lackierten oder schleimigen Wällen sich umgeben. In einer solchen Aussaat einer 7-tägigen Endo-Kultur der 1. Form fanden sich 2 opake Kolonien, die allmählich ein dunkelrosa Zentrum mit kleinen, farblosen, stippchenförmigen Auflagerungen und ringsherum breite farblose Schleimwälle bekamen (s. Fig. 8). Die Aussaat aus dem Zentrum dieser beiden Kolonien ergab nun normalgroße, chagrinierte, leicht aufgefaserte und gezacktrandige, wenig durchscheinende, rötliche bis fuchsinrote Kolonien mit oder ohne Fuchsinglanz, ohne Knöpfe. Ältere Kolonien bekamen eine stark gerunzelte Oberfläche mit kleinen, farblosen Stippchen und Knöpfen, besonders am Rande, und zwar dann, wenn die Reduktion des gebildeten Fuchsins einsetzte. Allmählich konfluieren die Knöpfe zu mächtigen, farblosen Schleimwällen (s. Fig. 20); die in den ersten Generationen schwachrote Färbung wurde allmählich ausgesprochener, ebenso der Fuchsinglanz. Die Aussaat aus den Schleimwällen der beiden oben erwähnten Kolonien ergab dagegen die oben beschriebene farblose bis rosafarbene, durchsichtige Normalform mit Knopfbildung. Im Laktose-Nutroseröhrchen gab die rote Form nach 44 Stunden Rötung, später starke Opaleszenz, jedoch keine volle Gerinnung; die farblose Normalform ließ es unverändert selbst nach 166 Stunden. In Lackmusmolke gibt die 1. Rötung, die 2. keine, im Rothberger-Agar verhalten sich beide typisch, Traubenzucker wird von beiden unter Gasbildung vergoren. Beide Formen wurden in mehr als 30 Generationen fortgezüchtet; dabei gab die rote Form mehrfach Rückschläge in die farblose, durchscheinende. Man kann den Fall entweder so deuten, daß ein *Paracoli* vorliegt, das eine schwach laktosespaltende Form abspaltet, oder aber ein ausgeartetes *Coli*, das im Begriffe ist, durch Rückschlag sein obligates Laktosespaltungsvermögen wieder zu erlangen. Eine derartige

Auffassung wäre vielleicht auch auf alle *Paracoli*-Stämme auszudehnen. Der biologische Sinn der Knopfbildung konnte auch in diesem Falle nicht klargelegt werden, ebensowenig auch bei einigen weiteren, von mir gezüchteten *Paracoli*-Stämmen.

#### Coli No. 27. .

Von einer 20-stündigen Endo-Plattenkultur dieses Stammes wurde auf eine Malachitgrünagarplatte  $\frac{1}{2500}$  ausgestrichen. Nach 3-tägiger Bebrütung waren zwischen zahlreichen, kleinsten Kolonien 6 normalgroße, schleimig-kuppelförmige aufgegangen. Nach 1 Woche wurde von beiden Arten auf Endo-Platten ausgesät. Die schleimigen Kolonien ergaben hier ein Gemisch von normalgroßen, schleimig-kuppelförmigen, rosaroten bis fuchsinroten mit oder ohne Fuchsinglanz und von normalgroßen, flachen, fuchsinroten Kolonien mit Fuchsinglanz. Dieses Verhalten wiederholte sich in 23 Generationen auf Endo-Agar, die schleimige Form spaltete ständig die flache ab, diese dagegen blieb konstant. Auf gewöhnlichem Agar zeigten beide Formen denselben Unterschied, wie auf Endo. Die stark rezessive Tendenz der schleimigen Form zeigte sich auch beim Altern von Bouillonkulturen. Eine Aussaat aus einer 26-tägigen Kultur der schleimigen Form zeigte lauter flache Kolonien, und zwar von dreierlei Art: 1) flache, normalgroße chagrinierte; 2) flache, gehemmte, glatte; 3) flache, stark gehemmte Zwergformen (siehe Fig. 11). Die Aussaat aus der 26-tägigen Bouillonkultur der flachen Form ergab normalgroße, flache und flache Zwergformen. Alle diese Formen erwiesen sich in 12 Generationen als beständig. Im mikroskopischen Bilde zeigen beide ungehemmte Formen, die flache sowohl als die schleimige neben kurzen bis mittellangen Stäbchen auch Fadenbildung, bei den ersteren stärker ausgesprochen. Die flache Zwergform weist nur kurze Stäbchen auf, keine Fäden.

#### Coli No. 23.

Dieser geprüfte, normal wachsende Coli-Stamm ergab infolge einer 3-tägigen Passage über Malachitgrünagar  $\frac{1}{10000}$  folgende Formen: 1) normalgroße, feuchte, flach erhabene, glatte, fuchsinrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von 4—8 mm Durchmesser; 2) gehemmte, feuchte, glatte, knopfförmige, fuchsinrote Kolonien mit Fuchsinglanz, von 1—3 mm Durchmesser; 3) normalgroße, schleimig-kuppelförmige, rötliche bis tiefrote Kolonien mit oder ohne Fuchsinglanz von 6—8 mm Durchmesser; 4) normalgroße, flache, rötliche bis tiefrote Kolonien mit erhabenen Schleimwällen, von 6—8 mm Durchmesser („Siegelringform“); 5) gehemmte, trockene, fein chagrinierte, mattrote, flache Kolonien von 2—4 mm Durchmesser mit breiterem oder schmalerem, grünlich glänzendem Halo; 6) normalgroße, flache, durchscheinende, farblose bis rötliche Kolonien von 4—8 mm Durchmesser, mit starker Reduktionswirkung und starker Kristallbildung im Agar (Alkalibildung?); 7) ebensolche rosafarbene durchsichtige.

Die schleimige Form (3) ist eine ständig rückschlagende, indem sie in jeder Generation in die glatte Normalform 1 zurückschlägt, so daß sie ohne besondere Auslese leicht ganz in dieselbe übergeht. Außerdem ist im Laufe der Generationen an derselben eine Degeneration festzustellen, indem der Schleim weniger kompakt, die Wölbung der Kolonien niedriger wird. Form 4, die Siegelringform, ist aus der schleimigen

entstanden und als Uebergangsform zur normalen aufzufassen, die sie auch ständig in großer Anzahl abspaltet. Die Hemmungsform 2 hielt sich immer sehr beständig, nur im Anfang gab sie einige Rückschläge zur Normalform 1. Die merkwürdige gehemmte, mattrote Form 5 mit Fuchsinhalo ist 2mal in Form von flachen Auswüchsen aus der Normalform entstanden und schlägt öfters in dieselbe zurück. Die Bedeutung des Fuchsinhalos ist nicht ganz klar; es scheint sich wohl um eine starke Laktosespaltung zu handeln mit Diffusion der Spaltprodukte in die Umgebung und Ausscheidung der Aldehyd-Fuchsinverbindung an der Oberfläche des Agars. Im mikroskopischen Bilde zeigt diese Form vielfach Kurzstäbchen und Fäden mit den oben schon erwähnten Fuchsin einschließen. Die im Laktosespaltungsvermögen beeinträchtigten Formen 6 und 7 entstanden ebenfalls in Form von flachen Auswüchsen an Kolonien der Normalform (s. Fig. 4) und schlagen öfters in dieselbe zurück. Die schleimige Form behielt auch auf gewöhnlichem Agar sowie auf Malachitgrünagar ihr Schleimbildungsvermögen. Wir sehen hier wieder, wie bei den *Mutabile*-Stämmen, eine Mannigfaltigkeit der Variationsrichtungen an einem Stamm vereinigt; er variiert das Laktosespaltungsvermögen, das Wachstumstempo, das Schleimbildungsvermögen, die Konsistenz der Kolonien. Die Beobachtung der daraus resultierenden Formen erstreckte sich über 30—78 Generationen.

#### Coli No. 34.

Auch dieser Stamm gab infolge 3-tägiger Passage über Malachitgrünagar  $1/10000$  sowie  $1/2500$  in übereinstimmender Weise 2 Formen, und zwar 1) normalgroße, flache, fein chagrinierte, leicht aufgefaserte, fuchsinrote Kolonien von 6—10 mm Durchmesser, mit Fuchsinglanz und 2) normalgroße, kuppelförmig schleimige, fuchsinrote Kolonien von 5—8 mm Durchmesser, mit Fuchsinglanz. Diese letzteren spalten beständig die Normalform ab. Zweimal wurde auch die Normalform in Form von flachen Sektorauswüchsen an schleimigen Kolonien abgespalten. Auch hier artete allmählich im Laufe der Generationen die schleimige Form aus, indem der Schleim weniger kompakt, die Kolonien etwas abgeflacht wurden. Die beiden Formen haben sich in 30 Generationen als beständig erwiesen und behielten ihre Sonderart auch auf gewöhnlichem Agar sowie auf Malachitgrünagar.

#### Gelbe Coli-Varietäten

sind von mir öfter aus typhus- oder ruhrverdächtigen Stühlen gezüchtet worden, zuweilen auch als Luftverunreinigungen (wahrscheinlich Grasbewohner!). 6 Stämme sind auf Veränderlichkeit geprüft worden, 2 davon ganz eingehend. Zum Auslösen der Variationen genügte hier bereits Altern der Kulturen, besondere schädigende Agentien kamen hier nicht zur Anwendung. Die beobachteten Varietäten waren: 1) Normalform: mäßig große, flach erhabene Kolonien, wenn gut ausgebildet, mit vertiefter, dünner, flacher, rosa durchsichtiger Zentraldelle und aufgeworfenen, breiten, orangefarbenen, durchscheinenden Wällen. Viele Kolonien (jedoch nicht alle!) weisen meist schmale, schlitzförmige, rosafarbene, durchsichtige Sektoren auf, die in die Zentraldelle einmünden (s. Fig. 25, 31). Aussaaten aus älteren Kulturen geben öfter Kolonien, in denen orangefarbene Sektoren mit ebenso breiten, rosafarbenen abwechseln, so daß sehr zierliche Figuren, die an Ordenskreuze und Or-

denssterne erinnern; zustande kommen (s. Fig. 9, 15). 2) **G e h e m m t e**, **o r a n g e f a r b e n e** Form zeigt kleine, runde, flache, durchsichtige, orange-farbene Kolonien mit Andeutung von Zentraldelle (s. Fig. 68); 3) **g e h e m m t e**, **b l a ß g e l b e** Form: kleine, runde, flache, durchsichtige, blaßgelbe Kolonien (s. Fig. 32); 4) **g e h e m m t e** **f a r b l o s e** Form: kleine, flach-scheibchenförmige, durchsichtige, blaßrosa Kolonien mit schmalen, leistenförmigen, wenig erhabenen, leicht gelblich-rosa gefärbten Randwällen (s. Fig. 2); 5) **g e h e m m t e**, **s c h l e i m i g e**, **o r a n g e f a r b e n e** Form: kleine, flach-kuppelförmige, schleimig-opake, orangefarbene, leicht gesprenkelte Kolonien; 6) **g e h e m m t e**, **s c h l e i m i g e**, **b l a ß g e l b e** Form: ebenso, nur blaßgelb bis farblos (s. Fig. 29).

Die Normalform spaltet fast ständig die gehemmte, farblose Form 4 ab, und zwar sichtbar in Form der rosafarbenen Sektoren. Aussaat aus der ebenfalls rosafarbenen Zentraldelle reproduziert, ebenso wie die Aussaat aus den rosafarbenen Sektoren, zum Teil die orangefarbene Normalform, zum Teil die farblose. Ältere Kulturen aller Formen weisen an isolierten Kolonien, vor allem aber an konfluierenden Belägen kleine, farblose bis orangefarbene Knöpfchen auf, deren Aussaat jedoch zu keiner neuen Form führt. An älteren Kulturen der ersten 3 Formen treten zuweilen schleimige Knöpfe oder Auswüchse auf, die (nicht immer) zum Ausgangspunkt der schleimigen Formen werden (s. Fig. 6). Rückschläge zur Normalform sind nur selten in den gehemmten Formen 2 und 3 beobachtet worden, nicht in der gehemmten, farblosen Form. Auch hier zeigen die schleimigen Formen eine Tendenz zur Ausartung, indem der Schleim loser und dünnflüssiger wird und zum Eintrocknen neigt, wodurch die Wölbung der Kolonien abgeplattet wird. Ein interessantes Merkmal der gelben Stämme ist das Gelatineverflüssigungsvermögen: Im Stich setzt die Verflüssigung nach 4–8 Tagen ein, wird allmählich trichterförmig oder sackförmig und nach langer Zeit sogar zylinderförmig. Nur die gehemmten, blaßgelben und farblosen Formen ließen eine Verflüssigung auch nach langer Beobachtungszeit vermissen. Die Formen 2, 5 und 6 waren träge Verflüssiger. Löffler-Serum wurde von meinen Stämmen nicht verflüssigt. Eine andere ziemlich charakteristische Eigenschaft ist ein eigentümlicher aromatischer Geruch, der auf Endoplasmen nicht, aber auf gewöhnlichem Laktoseagar gebildet wird.

Wir haben in unserem gelben Coli eine Sippe vor uns, deren Variation 4 Richtungen einschlägt, indem sie 1) das Farbstoffbildungsvermögen, 2) das Gelatineverflüssigungsvermögen, 3) das Wachstumstempo und 4) das Schleimbildungsvermögen abändert. Es dürfte nun nicht uninteressant sein, darauf hinzuweisen, daß manche der oben beschriebenen Abarten in der Natur vorzukommen scheinen. Bei der Mehlteiggärung fand Levy einen gelben Säurebildner, dem Milchsuckerspaltungsvermögen abgeht, der intensiv gelben Farbstoff produziert und Gelatine vom 3.—5. Tage an verflüssigt; dieser dürfte wohl unserer Normalform am nächsten stehen. Sodann fand man ebenfalls bei der Mehlteiggärung Stämme, die gelb wachsen, Gelatine erst vom 7.—11. Tage zu verflüssigen anfangen und Milchzucker ebenfalls unzersetzt lassen (*B. coli* var. *luteo liquefaciens* [Lehmann und Levy]); hierher gehören wohl unsere Hemmungsformen 2 und 3. Ein noch anderer Mehlteigvergärer endlich, das *B. coli* var. *albidoliquefaciens* (Lehmann und Levy), bildet keinen gelben Farbstoff, greift Gelatine erst vom 11. bis 21. Tage an und dürfte als natürliches Vorbild unserer gehemmten farblosen Varietät 4 zu betrachten sein. Daß derartige Coli-Abarten



ab und zu auch in den tierischen Organismus bineingelangen und hier sogar pathogen wirken können, zeigt ein taubenpathogener Stamm von Neumann. Auch die von Hövell, Riegel sowie Köhlisch in neuester Zeit aus infektiösen Exkreten gezüchteten gelben Stämme dürften hier anzureihen sein.

### Zwergformen beim *B. typhi*.

Solche wurden bekanntlich zuerst von Jacobsen (als *B. typhi mutabile*), sodann von Fromme direkt aus dem infizierten Menschen gezüchtet, und in neuester Zeit haben Goebel, Gildemeister und Penecke wieder darüber berichtet. Verf. hat sodann bei einem ursprünglich normalen Stamm durch langen Aufenthalt in Blutbouillon bzw. Blutgalle 2 verschiedene, auch von den sonst beschriebenen differente Zwergformen erhalten.

Die gegenwärtige Beobachtung betrifft zunächst einen Typhusstamm No. 7300, der aus dem Stuhl eines Typhusrekonvaleszenten im September 1915 auf Endo-Platten gezüchtet wurde. Bereits auf der Originalplatte waren kleinste, kaum stecknadelkopfgroße, durchsichtige Kolonien aufgegangen, deren Ueberimpfung neben normalgroßen Kolonien wieder Zwergformen ergab. In der Folge wurden beide Formen in 100 Generationen über Endo-Agarplatten geführt, ohne daß eine prinzipielle Aenderung des Variationsbildes eingetreten wäre. Die Zwergformen stellen sich dar als feine, flache, fein granuliert, bizarr gezacktrandige, durchsichtige, rosafarbene, trockene Kolonien von 1–2 mm Durchmesser. Manche Kolonien machen den Eindruck von zierlichen Traubenaggregaten (s. Fig. 51). Beim Altern dieser Kolonien sieht man, daß einzelne Granula an der Peripherie (weniger in der Mitte) wuchern, stärker prominent und lichtbrechend werden, daß dann solche gewucherte Granula verschmelzen und einen erhabenen, wulstigen, allmählich sich ausbreitenden, mehr farblosen Wall bilden, der zugleich gegen das Innere der Kolonie vorrückt und den ursprünglichen dünnen, trockenen Belag überdeckt. Man sieht also vor seinen Augen die Umwandlung einer Zwergform in eine Normalform (s. Fig. 53). Ueberimpft man eine junge, noch nicht von der Umwandlung ergriffene Zwergform, so entstehen wieder Zwergformen, darunter spärliche, normalgroße (3–5 mm Durchmesser), flach erhabene, farblose bis blaßrosa, weniger durchsichtige Kolonien der Normalform. Je weiter die Umwandlung fortschreitet, desto mehr Normalformen kommen in der Aussaat neben den Zwergformen auf. Die Normalformen selbst sind bei kurzen Uebertragungszwischenräumen konstant und schlagen unter solchen Bedingungen in die Zwergform nicht zurück.

Die der Zwergform innewohnende Umschlagstendenz in die Normalform ist in ihrer Manifestation von äußeren Bedingungen abhängig. So sieht man auf einer Endo-Platte, daß überall, wo die Impfstriche an den Rand der Platte herankommen, Normalformen entstehen, weil hier, infolge geringerer Hemmung, die Ernährungsbedingungen am günstigsten sind. Diese Umschlagstendenz wächst mit dem Fortschritt der Uebertragungen, indem die Umwandlungsvorgänge an den Zwergkolonien immer früher und in ausgedehnterem Maße einsetzen und bei Aussaaten ein steigender Prozentsatz von Normalformen resultiert. Auf gewöhnlichem Agar sind die Unterschiede die gleichen wie auf Endo-Agar, auf Malachitgrünagar  $\frac{1}{2500}$ — $\frac{1}{10000}$  fast ganz verwischt, jedoch bleibt der Typus dabei erhalten, so daß eine Rückkehr auf Endo-Agar die Zwerg-



form, bzw. die Normalform wieder erscheinen läßt. Die Agglutinabilität beider Formen, ebenso wie ihre sonstigen Eigenschaften sind typisch. Im mikroskopischen Bild sind die Stäbchen der Zwergform länger und schlanker als diejenigen der Normalform.

Bemerkenswert erscheint, daß aus einer 16-tägigen Bouillonkultur der Normalform eine gehemmte Form gezüchtet wurde, die sich von der Zwergform durch den geringeren Grad der Hemmung sowie Fehlen der Umschlagerscheinungen unterschied und in 20 Generationen als konstant sich erwies. Diese Beobachtung scheint mir ein weiterer Beweis dafür zu sein, daß der Umschlag von Zwergform zur Normalform ein irreversibler ist, so daß ein Eingriff in die Normalform nicht mehr die Zwergform aus ihr herauslockt, sondern eine abweichende Hemmungsform.

Außer dem „mutablen“ Typhusstamm No. 7300 wurden noch 2 andere, No. 8547 und No. 8569, direkt aus Stühlen von Typhuskranken gezüchtet, die ebenfalls Zwergformen von demselben Verhalten darboten, nur war hier die Umschlagstendenz noch ausgesprochener. Außerdem erhielt ich ebensolche Zwergformen bei 2 Stämmen nach Malachitgrünagarpassage, und zwar beim oben erwähnten Stamm No. 8547 und bei No. 8581. Dieser letztere Stamm bot ein besonders kompliziertes Variationsbild. Seine Zwergform wuchs in späteren Generationen in 2 Formen, einer sehr durchsichtigen, dunkelrosa gefärbten und einer weniger durchsichtigen hellrosa. Beide Formen bekamen farblose, undurchsichtige Knöpfe und Auswüchse, deren Aussaat die normalgroßen, farblosen, wenig durchsichtigen Kolonien des ungehemmten Typus ergab. Außerdem spaltete öfters die durchsichtigere dunkelrosa Kolonien der weniger durchsichtigen, hellrosa Form ab. Die Konstanz dieser 3 Formen wurde in mehr als 60 kurzfristigen Uebertragungen festgestellt. Auf die Bedeutung dieser Rosafärbung soll bald zurückgekommen werden (s. Fig. 28, 30, 35, 36, 38, 39, 40, 42, 43, 46, 49, 50, 52, 54, 62). Alle hier beschriebenen Hemmungsformen werden im Gegensatz zur Mehrzahl der früher bekannt gewordenen durch Natriumsulfit nicht verändert. Auf gewöhnlichem Agar bleibt die Hemmung sowie der Rückschlagstypus bestehen.

#### Paratyphus B No. 7256 und 7658.

Zwei geprüfte, aus Krankenstühlen gezüchtete Paratyphus B-Stämme wurden durch 3-malige Malachitgrünagarpassage ( $1/20000$ — $1/10000$ — $1/2500$ ) übereinstimmend in 2 Formen zerlegt: 1) normalgroße, flach erhabene, halb durchscheinende, runde, farblose Kolonien und 2) normalgroße, flache, durchsichtige, rosa bis dunkelrosa gefärbte, zackig begrenzte Kolonien mit erhabener Zentralpartie (s. Fig. 55). Der unbewachsene Agar der Endo-Platte bleibt bei der 1. Form auch nach längerer Zeit farblos, bei der 2. wieder rötlich. Die Rosafärbung der Kolonien der 2. Form variiert an Intensität, zuweilen werden die Kolonien sogar rot mit einem Anflug von Fuchsinglanz. Die Beständigkeit dieser Formen hat 21 bzw. 45 Umzüchtungen standgehalten. Die Rosa- bzw. Rottfärbung der Kolonien scheint nicht etwa, wie es auf den ersten Blick vorkommen könnte, der Ausdruck eines rudimentären Laktosespaltungsvermögens zu sein, denn im Laktose-Nutroseröhrchen lassen beide Formen den Milchzucker unzersetzt. Ich möchte die Ursache dieser Differenz vielmehr in dem verschieden starken Reduktionsvermögen beider Formen vermuten. Rothberger-Agar wird von der farblosen Form nach

24 Stunden in typischer Weise reduziert, während die rosafarbene ihn wochenlang unverändert läßt. Nun ist bekanntlich die Reduktion ein Abwehrmittel der Bakterien gegen Farbstoffe, die dadurch in die weniger toxischen Leukoderivate übergeführt werden. Das durch den Luftsauerstoff reoxydierte Fuchsin des Nährbodens wird von der farblosen Form wieder entfärbt, während die rosafarbene dies nicht vermag und passiv damit imbibiert wird, bzw. durch die Affinität der Bakterien für den Farbstoff ihn in die Kolonie hineinzieht. Auf die Differenz des Reduktionsvermögens beider Formen ist auch die Beobachtung zurückzuführen, daß, auf Malachitgrünagar zurückgebracht, die farblose Form besser wächst als die rosafarbene. Die erstere ist also an Malachitgrün angepaßt, die zweite ist durch die Malachitgrünagarpassage ausgeartet. Auf gewöhnlichem Agar wächst die erste undurchsichtiger als die zweite. Interessant ist, daß, während die erste von Paratyphus B-Immunserum agglutiniert wird (wenn auch schwächer als normale Stämme), die zweite mit dem Serum gar nicht reagiert. Eine neuerliche Malachitgrünagarpassage ( $1/_{2500}$ ) von 4-tägiger Dauer hat von der farblosen Form wieder eine rosafarbene abgespalten, von der rosafarbenen aber eine dunkelrosafarbene, deren gut isolierte Kolonien unter Umständen sogar rot gefärbt erscheinen.

Erwähnt sei noch, daß außer diesen 2 Stämmen noch eine Reihe von Typhus- und Paratyphusstämmen rosafarbene, beständige Abarten abgespalten haben, und zwar auch ohne vorherige Malachitgrünagarpassagen. Einigemal wurden solche Formen direkt von den Originalstuhlpplatten gezüchtet.

Direkt aus dem Blut eines Kranken wurde ein Paratyphus B-Stamm in 2 Formen gezüchtet, und zwar größere, chagrinierte, weniger durchsichtige, besser agglutinable und kleinere, glatte, durchsichtigere Kolonien, beide in einer Reihe von Umzüchtungen beständig.

#### Variationen von Ruhrstämmen.

Ein Y-Stamm No. 804 gab bei Aussaat von einem 4 Tage bebrüteten Laktose-Nutroserröhrchen 3 Koloniefornen, und zwar 1) normalgroße, flach erhabene, halb durchscheinende, farblose Kolonien, 2) mäßig große, flach erhabene, durchsichtige, rosafarbene und 3) knopfförmige, farblose Zwergkolonien. Die 3 Formen wurden in 32 Generationen beständig befunden, die Zwergform gab manchmal Umschläge zur gehemmten rosafarbenen Form 2 (s. Fig. 47). Aeltere Kolonien der 1. und 2. Form führten mehr oder weniger zahlreiche, farblose bis rötliche Knöpfchen, deren biologische Bedeutung jedoch nicht zu ermitteln war (s. Fig. 45, 48).

Ein Flexner-Stamm No. 964 gab bei Aussaat aus einer alten Agarkultur eine normalgroße, durchsichtige, rosafarbene Kolonieforn mit vielen Knöpfen, eine mäßig große, weniger durchsichtige, farblose, mit wenigen Knöpfen sowie eine rosafarbene Zwergform mit wenigen Knöpfen, die öfter in die 2. Form zurückschlug.

Knopfbildung wurde überhaupt bei Ruhrstämmen, in Uebereinstimmung mit anderen Autoren (Winter), öfters in ausgeprägter Weise sowohl auf gewöhnlichem Agar als auch auf Endo-Agar beobachtet (s. Fig. 41). Ihre biologische Bedeutung ist unklar. Besonders gern entstanden dieselben an den freien Enden der Impfstreiche oder um manche fremde Verunreinigungscolonien herum. Sodann wurde in letzter Zeit bei einigen Shiga-Kruse-Stämmen eine Variabilitätsform gefunden,

die bereits früher bei manchen Coli-Stämmen aufgefallen war. In Originalaussaaten wuchsen dieselben in Form von winzigen Zwergkolonien, die öfter um sich ein kleines, grünlich glänzendes Fuchsinhalo aufwiesen. Die Aussaat auf eine weitere Endo-Platte ergab neben Zwergformen etwas größere Kolonien in geringer Anzahl. Weitere Ueberimpfung ergab jedoch sowohl bei den größeren als auch bei den Zwergkolonien wieder Gemische beider Formen. Es scheint sich demnach um gehemmte Formen zu handeln, die, je nach den zufälligen Standortsbedingungen, zu kleineren oder größeren Kolonien heranwachsen. Bei den erwähnten Coli-Stämmen war dieses Verhalten noch prägnanter. In den Impfstrichen zeigten die isolierten Kolonien Zwergtypus, nur an freien Rändern sowie an besonders gut isolierten Stellen wuchsen üppige, stark prominente, viel größere und undurchsichtigere Kolonien heran. Auch konfluente Striche zeigten in der Mitte einen dünnen, flachen, durchsichtigen Belag mit wallartigen, opaken Rändern. Aussaat sowohl aus den gehemmten als auch aus den üppigen Wuchsformen reproduzierte immer dasselbe Bild, das deutlich für eine besondere Empfindlichkeit gegenüber eigenen Hemmungsstoffen sprach.

#### Mikrokokken auf Brechweinsteinagar.

In Nachprüfung der Angaben von Engeland wurden 2 frisch gezüchtete Stämme von *M. pyogenes* und *aureus*, ein Stamm von *M. candicans*, sowie einige nicht näher identifizierte Luftmikrokokkenstämme auf gewöhnlichen Agar mit 2 Prom. Brechweinstein gebracht. Die Staphylokokkenstämme zeigten zahlreiche, sehr zarte, durchscheinend weißliche, flache, kleine Kolonien, manche davon tragen nach einiger Zeit isolierte, ziemlich große, vorspringende, sattgelbe, undurchsichtige Knöpfe, dazwischen spärliche, größere, sattgelbe, undurchsichtige, mehr erhabene Kolonien, anscheinend durch Ueberwucherung von kleinen Kolonien durch ihre Knöpfe entstanden. Diese letztere Form ist eine Anpassungsform, denn neuerlich auf 2-prom. Brechweinsteinagar gebracht, wächst sie gleich in Form üppiger, undurchsichtiger, erhabener Kolonien an, während die zarten Kolonien das oben geschilderte Bild wiederholen. Dieses Bild sieht man auch entstehen, wenn man den unbeeinflussten Stamm (z. B. von gewöhnlichem Agar her) auf einen Agar mit 1 Proz., 2—4 Proz. Brechweinstein aussät, auf 6- und 8-proz. Brechweinsteinagar gehen unangepaßte Staphylokokken nicht an. Solche, die bereits den 2-prom. Agar passiert haben, auch die angepaßten, wiederholen das Bild des knopfbildenden Anpassungsvorganges auf 1—4-proz. Brechweinsteinagar und lassen sich in ziemlich schneller Stufenfolge auch an 6- und 8-proz. Agar gewöhnen, auf dem dieselben Stämme ursprünglich nicht wachsen wollten. Im allgemeinen wächst die Nachkommenschaft der angepaßten, üppigen Kolonien auf diesen stark gifthaltigen Nährböden besser, als diejenige der zarten. Mit Eintritt der Anpassung erholt sich meist auch die anfangs gehemmte Farbstoffbildung.

Beim *M. candicans* wurde auf 2-prom. bis 4-proz. Brechweinsteinagar nur Bildung von kleinsten und größeren Kolonien beobachtet, keine Knöpfe (s. Fig. 1). Eine Anpassung an 6- und 8-proz. Brechweinstein konnte nicht erlangt werden, ebenso wie bei den Luftmikrokokken.

### Knopfbildung bei *Sarcina lutea*.

Die betreffende Luftsarcine wuchs bei Zimmertemperatur auf gewöhnlichem Agar in ziemlich großen, flach erhabenen, kaum durchscheinenden, sattgelben Kolonien, deren Oberfläche mit zahlreichen kleinen, prominenten, blaßgelben Knöpfen besät war. An der Peripherie wuchsen dieselben zu flachen, runden Auswüchsen heraus (s. Fig. 3). Aussaat aus solchen Kolonien ergab neben zahlreichen Kolonien von Muttertypus kleinere, flach-kegelförmige, blaßgelbe, genabelte, glatte Kolonien ohne Knöpfe. Aussaat aus den Knöpfen ergibt nun diesen letzten Typus, der sich als solcher erhält, während der Normaltypus immer den anderen in Form von Knöpfen abspaltet. Beim Altern der Kulturen wurde zuweilen im Zentrum der Knöpfe und Auswüchse bräunliche Färbung beobachtet, ebenso auf den knopffreien Kolonien konzentrische bräunliche Ringe. Durch Aussaat aus einer alten Agarkultur der Normalform wurde eine durchsichtige, ebenfalls stark knopfführende Form gewonnen. Auch bei der Sarcine ist mehrfach die Begünstigung der Knopfbildung durch fremde Verunreinigungscolonien beobachtet. Die biologische Bedeutung der Knopfbildung ist auch in diesem Falle unaufgeklärt geblieben.

### Allgemeine Bemerkungen.

Wir haben oben an einer Reihe von *Coli*-Stämmen mannigfache Variationen auftreten gesehen, sei es unter der Mitwirkung von Stoffwechselvorgängen in gewöhnlichen Nährböden, sei es als Folge der Einwirkung von dysgenetischen Agentien (hier insbesondere Farbstoffen). Dieser Formenkreis könnte zweifellos noch eine weitere Ausdehnung erfahren, wenn man bei manchen Stämmen die Untersuchungen länger fortgeführt, die Versuchs- und Züchtungsbedingungen vermannigfaltigt hätte, vor allem aber, wenn man noch andere Merkmale als die oben beobachteten in den Kreis der Untersuchungen gezogen hätte. Von biochemischen Merkmalen ist ja nur das Laktosespaltungsvermögen, das Reduktionsvermögen sowie die Gelatineverflüssigung berücksichtigt worden, von serologischen nur hier und da die Agglutinabilität; es bleiben also noch viele variable Merkmale, deren verschiedene Kombinationen die Anzahl der erhältlichen Formen unschwer verzehnfachen könnten.

An sich ist ja bereits das *B. coli* eine sehr variable Art, wie es ihre Ernährungsweise sowie der Wechsel ihrer natürlichen Standorte mit sich bringen. So finden wir denn bereits in der Natur zahlreiche, scheinbar „spontane“ Abweichungen, die in mehr oder minder lückenlosen Reihen zu verwandten Arten hinüberleiten. Zu demselben Resultat führt uns die experimentelle Variabilitätsforschung, mit dem Unterschied jedoch, daß man dort durch Analyse verschiedener Stämme von zum Teil unbekannter Vorgeschichte dazu gelangt, hier aber der Nachweis geführt wird, daß auch ein und derselbe Stamm verschiedene Entwicklungspotenzen in sich birgt, die man ihm durch geeignete Eingriffe entlocken kann. Ob alle bei einer Art (hier beim *B. coli*) beobachteten Variationen im Genoplasma jedes einzelnen Stammes potentiell gegeben sind, ist eine Frage, die zurzeit zwar kaum bejahend beantwortet werden kann, die ich aber durchaus nicht von vornherein verneint wissen möchte.

Die experimentelle Bearbeitung dieser Fragen hat den Vorzug, daß sie uns über die Stabilität einzelner Merkmale, sozusagen über die Festigkeit ihrer Verankerung im Genoplasma Aufschluß geben kann. Damit ist natürlich auch die Grundlage zu einer Wertbeimessung ihrer

systematischen und diagnostischen Dignität gegeben. Beim Coli z. B. sehen wir, wie übrigens auch bei vielen anderen Bakterienarten (Typhus, Paratyphus, Dysenterie, *Alcaligenes*, *Aërogenes* Friedländer, *Pyocyaneum*, *Fluorescens*, *Prodigiosum*, Strepto- und Pneumokokken, Cholera, Vibrionen), daß die meist durch die Form der Einzelkeime bedingten „hellen und dunklen“ (durchsichtigen und undurchsichtigen) Formen<sup>1)</sup> besonders leicht, schon infolge von physiologischen Reizen, auftreten oder verschwinden. Gerade diese Leichtigkeit des Umschlags hat dazu geführt, die hierhergehörigen Variabilitätserscheinungen als Generationswechsel zu proklamieren. Man kann nun ohne weiteres zugeben, daß die Promptheit und Gesetzmäßigkeit dieser Umschläge an präformierte Potenzen des Genoplasmas denken lassen, die in Erscheinung treten, sobald der adäquate Reiz eingewirkt hat bzw. die entsprechenden Bedingungen realisiert sind. In diesem Sinne also könnte man eventuell die von Nyberg vorgeschlagene Bezeichnung „Generationswechsel“ sowie die „zyklische Entwicklung“ von Olsson bedingt akzeptieren. Ob es aber berechtigt ist, den ersten Terminus in seinem zoologischen Sinne auf die Erscheinungen der bakteriellen Variabilität anzuwenden, wie es Prell in jüngster Zeit tut, möchte man füglich bezweifeln, da die die Umschläge auslösenden Bedingungen keinen gesetzmäßigen Ablauf zeigen, wie dies in der Embryonalentwicklung der Fall ist. Die Erklärung der beiden morphologischen Wuchsformen des Coli (schlanke Langstäbchen, plumpe Kokkenformen) durch cytologische Hypothesen ist ganz willkürlich, da wir leider über diese Fragen bei den Bakterien so gut wie nichts wissen.

Viel schwieriger dagegen entstehen die stark abnormen Zwergformen. Anläufe dazu in Form vorübergehender Wachstumshemmung innerhalb einer oder zweier Generationen sind zwar öfter zu beobachten, aber nur selten erweisen sich die Formen als mehr oder weniger konstant. Solche Zwergformen sind bisher mehrfach bei Typhus (Jacobsen, Fromme, Verf., Goebel, Gildemeister, Penecke, Verf. oben), sonst bei *Prodigiosum* (Verf.), *Photobacterium indicum* (Beijerinck), *Alcaligenes* (v. Lingelsheim), Cholera (Stamm, Bail), *V. Proteus* (Firtsch), Coli (Villinger, Verf.), *B. mobile mutans* (Salzmann) beschrieben worden. Daß derartige extreme Formen nicht zur Entstehung von neuen, stabilen Arten oder Abarten Anlaß geben, mag einerseits daran liegen, daß die extremen Reize, die sie entstehen lassen, bei längerer Einwirkung die betreffende Sippe abtöten, andererseits daran, daß dieselben im Kampf ums Dasein infolge der Wachstumshemmung leicht unterliegen, endlich auch daran, daß sie oft eine starke Rückschlagstendenz aufweisen, die sie schnell zur Urform zurückführt. Mehr Aussicht auf Stabilisierung haben die ebenfalls mehrfach oben beschriebenen gemäßigten Hemmungsformen, die öfters korrelativ auch in biochemischer Hinsicht Verlustvariationen darstellen. So z. B. könnten vielleicht Typhus, die Paratyphen, die verschiedenen Ruhrerreger gewissermaßen als durch besondere Anpassungen spezialisierte Hemmungsformen des Coli betrachtet werden.

Großes biologisches und differentialdiagnostisches Interesse dürfen die Variationen der biochemischen Merkmale, vor allem des in dieser Gruppe so wichtigen Kohlehydratspaltungsvermögens beanspruchen. Hier wurde in erster Linie die Laktosespaltung ins Auge gefaßt, als ein viel-

1) Neuerdings auch bei manchen Sporenbildnern beobachtet.

gebrauchtes Unterscheidungsmerkmal (wenigstens zur vorläufigen Orientierung). Wir sehen in unseren Versuchen, daß es unschwer gelingt, mehr oder weniger konstante Abarten des *B. coli* zu züchten, die das Laktosespaltungsvermögen eingebüßt haben. Dies gelang nicht nur bei den *Mutabile*-Stämmen, deren Spaltungsvermögen ja an sich schon labil ist, sondern auch bei ganz normalen, frisch aus Stühlen gezüchteten Stämmen. Daß unter Umständen Verlust des Spaltungsvermögens scheinbar „spontan“ auftreten kann, beweisen die schwarz-blauroten Kolonien der Stämme E und 1286. Solche Erfahrungen müssen selbstverständlich zur Vorsicht bei der differentialdiagnostischen Verwendung so labiler Merkmale gemahnen, um so mehr, als anpassungsmäßiger Erwerb (Wiedererwerb?) vielfach beobachtet wurde. Manches „*Paracoli*“ hat sich in meinen Händen (und wahrscheinlich nicht nur in meinen) bei der zweiten oder dritten Umzüchtung als gewöhnliches irgendwie vorübergehend geschädigtes *Coli* entpuppt.

Interessant sind die farbstoffbildenden, gelatineverflüssigenden Abarten. Gehen bei denselben, wie wir es beobachtet haben, diese beiden Merkmale verloren, so haben wir *Paracoli*-Stämme vor uns. Bemerkenswert ist die Korrelation zwischen beiden Merkmalen, sowie die schon hervorgehobene Tatsache, daß auch in der Natur verschiedene Varianten dieser Sippe vorkommen, die eine Brücke zwischen dem *B. coli* und der Gruppe der farbstoffbildenden, gelatineverflüssigenden, gramnegativen Bakterien (*B. fluorescens*, *B. prodigiosum*) bilden.

Auch das Schleimbildungsvermögen, das zu wiederholten Malen bei verschiedenen *Coli*-Stämmen beobachtet werden konnte, ist ein Hinweis auf Verwandtschaftsverhältnisse des *B. coli*, und zwar zur Gruppe der Kapselbakterien. Während es aber bei den letzteren ein charakteristisches, sozusagen obligates Merkmal ist, dessen Verlust meist auf das Fehlen der vom Tierkörper ausgehenden adäquaten Reize zurückzuführen ist, ist es beim *B. coli* eine abnorme Erscheinung mit starker Tendenz zum Verschwinden. Oft entsteht es als Anpassungserscheinung an farbstoffhaltige Nährböden und scheint dann in irgendeiner Verbindung mit gesteigerter Reduktionsfähigkeit zu stehen. •

Daß das Reduktionsvermögen einer Bakterienart variieren kann, ist, wie es scheint, zum ersten Male oben beim *Paratyphus B* gezeigt worden, eine im Hinblick auf die differentialdiagnostische Verwendung des Neutralrotagars nicht unwichtige Feststellung. Auch bei Typhus sahen wir mehrfach Abarten mit herabgesetztem Reduktionsvermögen, was sich durch Rosafärbung der Kolonien auf *Endo* kundgab, während Varietäten mit normalem Reduktionsvermögen den durch Luftsauerstoff oxydierten Farbstoff, der vom Nährboden her in sie eindringt, wieder zurückzureduzieren imstande sind. Umgekehrt sahen wir oft bei verschiedenen *Coli*-Stämmen Varietäten auftreten, die mit erhöhtem Reduktionsvermögen ausgestattet sind; während bei den normalen Varietäten hier auf *Endo* die einmal produzierte Fuchsinfärbung bestehen bleibt, erfolgt bei diesen eine nachträgliche Reduktion des Aldehyd- (Säure-)Fuchsins, vielleicht als Abwehrreaktion gegen seine Giftwirkung. Oft ist dieses erhöhte Reduktionsvermögen mit der Fähigkeit der Schleimbildung vergesellschaftet, was, wie schon oben bemerkt wurde, auf einen innigen Zusammenhang beider Funktionen hinweist.

Endlich kann auch das Umschlagsvermögen selbst (die „Mutabilität“) der Variation unterliegen. Es war schon bekannt, daß verschiedene *Mutabile*-Stämme mehr oder minder schnell und reichlich Knöpfe

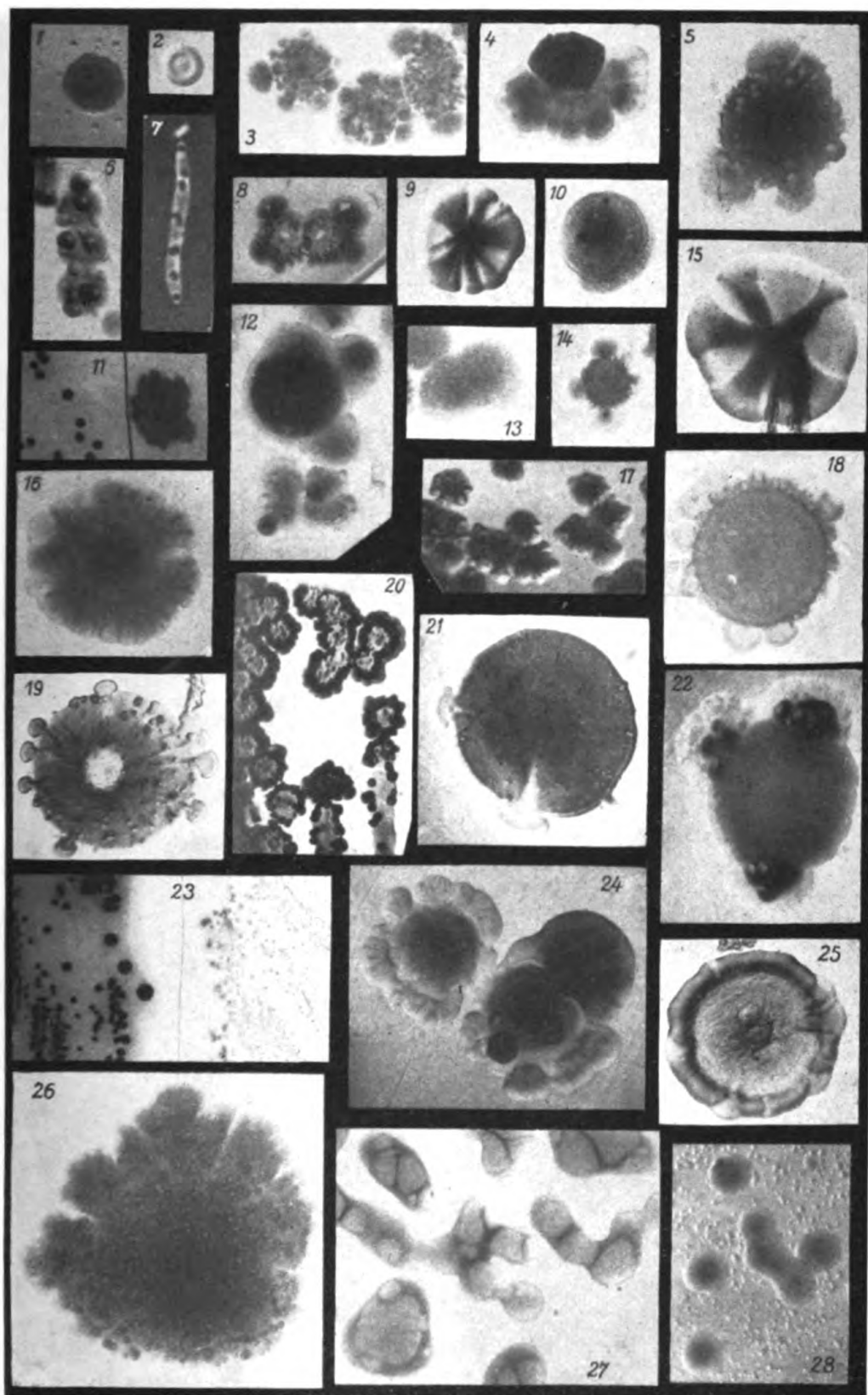
bilden, ebenso verschiedene Typhusstämme auf Rhamnoseagar (R. Müller), sowie daß durch Altern oder Schädigungen das Knopfbildungsvermögen leiden kann. Oben ist gezeigt worden, daß Variationen des Knopfbildungsvermögens beständig werden können, und es ist theoretisch die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß ein *Mutabile*-Stamm durch besonders energische Eingriffe sein Umschlagsvermögen ganz einbüßen könnte.

Und so sehen wir an unseren *Mutabile*-Stämmen ein prägnantes Beispiel, wie mannigfache Merkmalvariationen untereinander kombiniert vorkommen können an ein und demselben Stamm. Baerthlein hat gezeigt, daß derselbe Stamm weiße und rote, helle und dunkle Kolonien (in 4 Kombinationen) produzieren kann. In Erweiterung dieser Befunde sahen wir oben Kombinationen von 4 Variationsrichtungen, und zwar des Laktosespaltungsvermögens, der Umschlagsfähigkeit, der Koloniebeschaffenheit und des Wachstumstempos, unter entsprechender Vermehrung der beobachteten Varianten. Es wäre sicher nicht schwer, einen noch weiteren Kreis von Variationen an einem Stamm zu erlangen.

Einige Worte seien noch der Bedeutung der Knopfbildung gewidmet. Der Vorgang ist ein ziemlich verbreiteter und wurde bereits vor längerer Zeit von Germano und Maurea, Preisz, Selter sowie Verf. beschrieben. Die Entdeckung des *Coli mutabile* hat erneutes Interesse für denselben wachgerufen. Es fragt sich nun, wie dieser Vorgang biologisch zu bewerten ist, insbesondere, ob man jede Knopfbildung als mit einem Umschlag verbunden, sich vorzustellen hat, eine Anschauung, die neuerdings von Prell vertreten wird. Daß die den Knopf zusammensetzenden Bakterien von denjenigen der Mutterkolonie irgendwie verschieden sein müssen, liegt ja auf der Hand, schon deshalb, weil sie unter gründlich veränderten Ernährungsbedingungen herangewachsen sind. Trotzdem glaube ich, daß es in vielen Fällen sich lediglich um vorübergehende Modifikationen handeln wird, die mit mangelhafter Ernährung zusammenhängen, die aber schnell ausgeglichen werden können, so z. B. bei den oberflächlichen Sekundärkolonien beim Milzbrand (Verf.). Zur Annahme eines besonderen Umschlages in den Knöpfen wird man mindestens verlangen müssen, daß dieselben eine Nachkommenschaft von knopffreien Kolonien geben. Wenn in solchen Fällen zuweilen die biologische Bedeutung des Umschlages zurzeit nicht bekannt ist, so kann man sich mit der Hoffnung trösten, daß eingehendere Untersuchungen dieselbe vielleicht doch klarstellen werden.

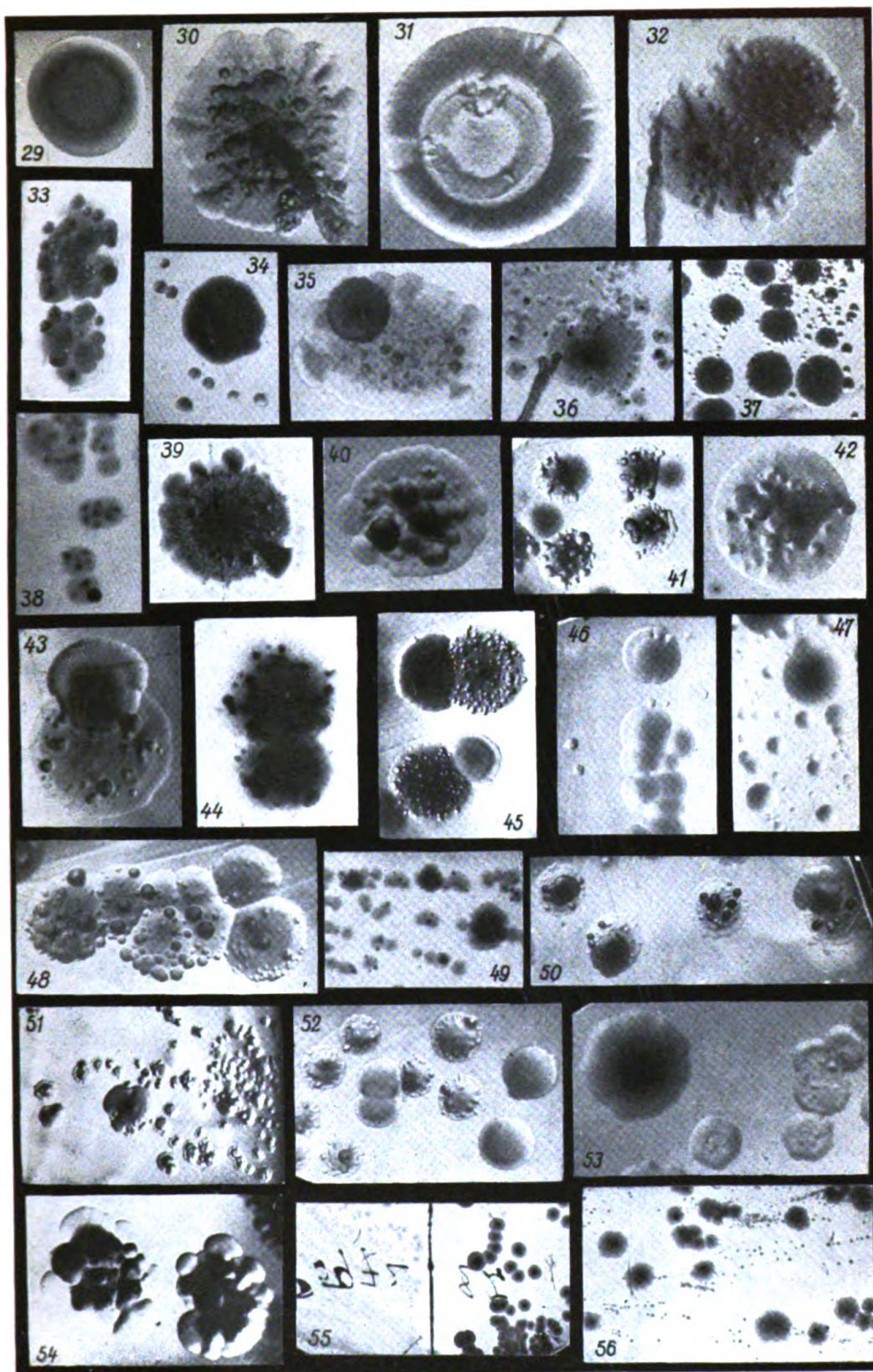
Es sei mir endlich erlaubt, noch einige kurze Bemerkungen über die sogenannte Mutationsfrage hier anzuschließen. Seit der Abfassung meiner zusammenfassenden Uebersicht im 1. Bande der „Ergebnisse der Bakteriologie“ ist zwar manche interessante Tatsache bekannt geworden, jedoch Nichts prinzipiell Neues, wodurch eine Aenderung des dort vertretenen Standpunktes notwendig geworden wäre. Es macht sich noch immer die Scheu bemerkbar, den Begriff der Mutation bei Bakterien gelten zu lassen: einesteils deshalb, weil das *Oenothera*-Prototyp und die Definition von de Vries tiefe Erinnerungsspuren zurückgelassen, andererseits aber, weil man die tatsächlichen und bedeutungsvollen Unterschiede, die in Variabilität und Erbllichkeit zwischen sexuell und asexuell sich fortpflanzenden Organismen bestehen, gebührend hervorgehoben sehen will. Gegen diesen letzteren Standpunkt ist natürlich prinzipiell nichts einzuwenden, und man wird sich unschwer mit Bezeichnungen, wie











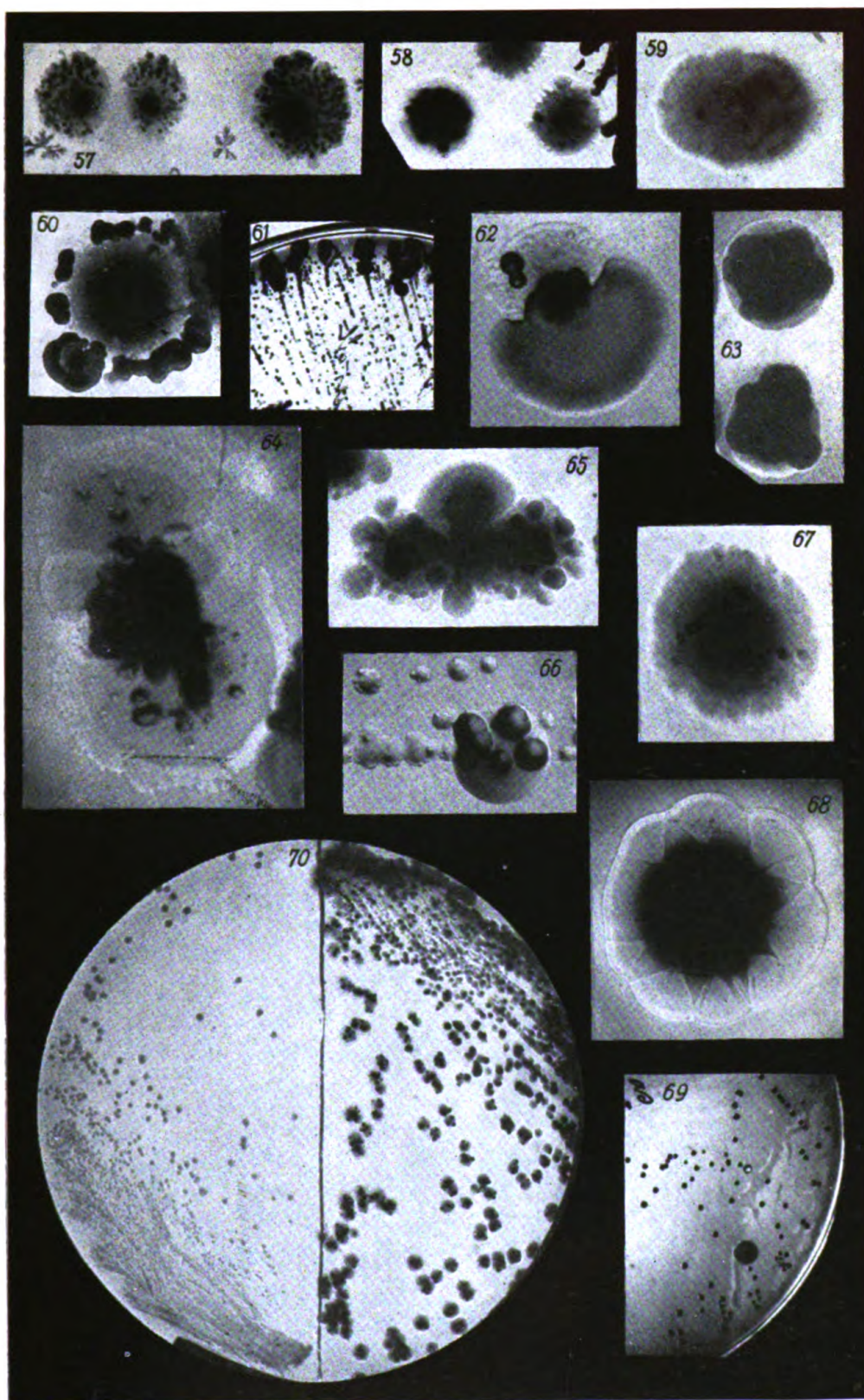
Verlag von Gustav Fischer in Jena,

Digitized by Google

Original from  
UNIVERSITY OF CALIFORNIA







Verlag von Gustav Fischer in Jena.



„reine Klone“ (Johannsen) sowie „Klonumbildungen“ (E. Lehmann), befreunden können. Ohne sich allzusehr in Begriffsdebatten zu vertiefen, die Gefahr laufen, zu Wortstreiten auszuarten, wird man auch weiterhin noch Tatsachenmaterial sammeln müssen, um die Probleme der Variabilität bei asexueller Fortpflanzung besser zu ergründen. Vor allem wird man natürlich den in den Rahmen der experimentellen Möglichkeiten irreversiblen Variationen das Augenmerk zuwenden, als dem Material für artbildende Vorgänge. Es liegt jedoch meines Erachtens kein Grund vor, sich dabei nur auf progressive Variationen zu beschränken, wie z. B. Schmitz es verlangt, denn sowohl Erwerbs- als auch Verlustvariationen können ja zu artbildender Verschiebung des Genbestandes führen <sup>1)</sup>.

### Zusammenfassung.

1) Bei verschiedenen Coli- und Paracoli-Stämmen wurden Variationen der Koloniengröße (des Wachstumstempos), der Durchsichtigkeit und Struktur der Kolonien, des Schleimbildungsvermögens, des Zuckerspaltungsvermögens, der Gelatineverflüssigung, der Farbstoffbildung, der Reduktionsfähigkeit beobachtet, und zwar in mannigfaltigen Kombinationen.

2) Bei Coli mutabile-Stämmen kamen daneben noch Schwankungen des Umschlagsvermögens zur Beobachtung.

3) Bei Typhus- und Paratyphus B-Stämmen wurden Zwergformen, außerdem Variationen des Reduktionsvermögens festgestellt.

4) Bei Ruhrstämmen wurden Zwergformen sowie Knopfbildung (von unbekannter biologischer Bedeutung) beobachtet.

5) Bei Sarc. lutea wurde ein mit gesetzmäßigem Umschlag verbundener Knopfbildungsvorgang festgestellt, dessen biologische Bedeutung zu eruieren bleibt.

### Erklärung der Abbildungen.

(s. Taf. No. I—III).

Die Aufnahmen, für deren schöne Ausführung ich Herrn Privatdozenten Dr. R. Weigl zu aufrichtigem Danke verpflichtet bin, stellen, soweit nichts besonders dabei bemerkt ist, die Objekte in 10- bzw. 40-facher Vergrößerung dar, und zwar bei künstlicher Beleuchtung (Glühlampe mit Mattscheibe).

### B. coli mutabile No. 4032.

Fig. 7. Gehemmte, undurchsichtige, verfilzte, rote Form (No. 15); langes Stäbchen mit Fuchsingranulis im Cyanochrinbild. Vergr. ca. 800 mal.

„ 33. Normalgroße, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige Form (No. 1). Kolonien mit zahlreichen roten Knöpfen, auf diesen sekundäre Knöpfe.

„ 34. Halb durchscheinende, spät umschlagende Zwergformen (No. 2). Kleine Zwergkolonien, dazwischen eine große, normale (Form No. 1), nach 3 Tagen.

1) Ein Mißverständnis von Schmitz sei hier richtiggestellt, der gegen meinen Vorschlag polemisiert, „die ganze Bakterienkultur als einen den Metazoen entsprechenden Zellenstaat, als ein Einzelwesen zu betrachten“. Ich habe nun einen derartigen Vorschlag nicht getan, sondern nur die Massenentwicklung von einem Einzelkeim bis zu einer Kultur mit der Entwicklung des Metazoeeneies zu einem erwachsenen Individuum in Parallele gestellt und daraufhin vorgeschlagen, die Entwicklung vom Einzelkeim zur Kultur als eine Bakteriengeneration zu betrachten.

- Fig. 57. Normalgroße, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige Form (No. 1). Drei dicht mit Knötchen besäte Kolonie nach 4 Tagen.
- „ 58. Normalgroße, halb durchscheinende, chagrinierte Form mit abgeschwächtem Umschlagsvermögen (No. 5) rechts, daneben links eine Kolonie der Normalform No. 1. Nach 4 Tagen.
- „ 59. Wie in Fig. 58, nur sind beide Formen aneinander gewachsen mit scharfer Trennungslinie, die erste links, die zweite rechts.
- „ 60. Normalgroße, halb durchscheinende, chagrinierte, rote Form (No. 12). Rote Kolonie mit Knöpfen, die an der Peripherie zusammenfließen und allmählich einen Schleimwall bilden. Nach 10 Tagen.
- „ 61. Halb durchscheinende, spät umschlagende Zwergform (No. 2) mit Rückschlag in die normalgroße Form No. 1, der hier nur am Rande der in natürlicher Größe wiedergegebenen Endo-Platte erfolgt ist.
- „ 63. Normalgroße, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige Form (No. 1); Kolonien fast ausgefüllt von mächtigen, tiefroten Knöpfen.
- „ 65. Normalgroße, durchscheinende, glatte, voll umschlagfähige Form mit schleimigen Knöpfen (No. 7) nach 3-tägiger Bebrütung. Manche Knöpfe sind in Form von schleimigen Auswüchsen bis an den Rand herausgewachsen.
- „ 66. 5-tägige Kultur auf Agar mit 3 Prom. Natriummonochloracetat (nach Penfold); kleine knopffreie und eine große knopfführende Kolonie.
- „ 67. Normalgroße, durchsichtige, glatte Form mit abgeschwächtem Umschlagsvermögen (No. 6).
- „ 69. Halb durchscheinende, glatte, rote Zwergform (No. 11) nach 4 Tagen. Zwergkolonien, dazwischen eine große, rote Normalform (No. 9). Endo-Platte, natürliche Größe.
- „ 70. Endo-Platte in natürlicher Größe nach 2-tägiger Bebrütung. Links halb durchscheinende, spät umschlagende Zwergform (No. 2) noch ohne Knöpfe, rechts weiße Normalform (No. 1) mit zahlreichen Knöpfen.

#### B. coli mutabile No. 7257.

- Fig. 5. Normalgroße, halb umgeschlagene, spät umschlagende, glatte Form (No. 3). Rotviolette Kolonie mit farblosen Knöpfen und einigen ebensolchen Auswüchsen, die aus Knöpfen entstehen und einen Rückschlag zur weißen Normalform (No. 1) bedeuten.
- „ 10, 13, 14, 18. Dasselbe. In Fig. 10 2 schwarzrote Knöpfe als Umschlag zur roten Form.
- „ 22. Dasselbe. Die 3 Randauswüchse gehören der weißen Normalform (No. 1) an und führen bereits große, schwarzrote Knöpfe.
- „ 24. Geheimmte, halb durchscheinende, spät umschlagende, glatte Form (No. 4), am Rande der 14 Tage alten Kolonie Schleimwälle und ein Schleimauswuchs als Umschlag in die schleimige Form No. 10.
- „ 27. Normalgroße, halb durchscheinende, voll umschlagsfähige, schleimige, glatte Form (No. 10). Konfluierende, schleimig-kuppelförmige Kolonien, farblos, rot gesprenkelt und geädert.
- „ 44. Normalgroße, halb durchscheinende, glatte, voll umschlagsfähige Form (No. 1) mit zahlreichen, schwarzroten Knöpfen.
- „ 56. Halb durchscheinende, spät umschlagende, glatte Zwergform (No. 7). Zahlreiche Zwergkolonien, dazwischen als Rückschlag mittelgroße Kolonien der geheimmten, halb durchscheinenden, spät umschlagenden, glatten Form (No. 6). 4-tägige Endo-Platte in natürlicher Größe.
- „ 64. In der Mitte rotviolette Kolonie der normalgroßen, halb umgeschlagenen, spät umschlagenden, glatten Form (No. 3) mit farblosen Knöpfen und Auswüchsen. Zwei davon sind zu großen Kolonien der weißen Normalform (No. 1) herangewachsen, die bereits zahlreiche farblose bis rote Knöpfe führen. 14-tägige Endo-Platte.

#### Paracoli No. 298.

- Fig. 12. Kleinere, farblose Kolonien mit zahlreicheren, kleinen, farblosen, durchsichtigen und wenigen größeren, undurchsichtigen Knöpfen, dazwischen eine große, umgeschlagene, fuchsinrote Kolonie.
- „ 16. Durchsichtige, rosafarbene Kolonie mit radiär gestreiftem Schleimwall, der hellere, flache, rosafarbene, durchsichtige Sektoren aufweist.
- „ 23. 4-tägige Endo-Platte in natürlicher Größe. Links schwarzrote Kolonie der umgeschlagenen, roten Form mit Fuchsinhof, rechts farblose bis rosa Kolonien der Ausgangsform; hier ist der Nährboden unverändert.

## Paracoli No. 407.

- Fig. 8. Opake Kolonien mit dunkelrosa, flachem Zentrum, das mit kleinen, farblosen, stippchenförmigen Auflagerungen besät ist und mit breiten, farblosen Schleimwällen. Die weißen Flecke sind Kristalle.
- „ 17. Rosafarbene Kolonien mit zahlreichen, kleinen, farblosen Knöpfen.
- „ 20. 7-tägige Endo-Platte der rötlichen, umgeschlagenen Form. Die Kolonien bekommen undurchsichtige, farblose Knöpfe, besonders am Rande (s. rechts unten), die allmählich zu mächtigen Schleimwällen konfluieren. Knopf- und Schleimwallbildung erfolgen unter dem Einflusse der Reduktion, die durch Ablassen der roten Kolonien und des geröteten Nährbodens sich kundgibt.
- „ 26. Schön ausgebildete, 7-tägige Kolonie der farblosen Ausgangsform mit zahlreichen, kleinen, farblosen Knöpfen.

## Coli No. 23.

- Fig. 4. Oben dunkle, schwarzrote Kolonie der Normalform (1), nach unten fächerförmiger, breiter Auswuchs der flachen, farblosen Form No. 6. 10-tägige Endo-Platte.

## Coli No. 27.

- Fig. 11. 2-tägige Endo-Platte in natürlicher Größe. Links kleine Kolonien der flachen Zwergform (No. 3), rechts eine große Kolonie der flachen, chagrinierten Normalform (No. 1).

## Gelbe Coli-Varietäten.

- Fig. 2. Kleine Kolonie der gehemmten, farblosen Form (No. 4) nach 5 Tagen.
- „ 6. Dichte, kleine Kolonien der Normalform (No. 1), besetzt mit schleimigen Knöpfen (größer und erhabener) sowie mit kleineren, flacheren, farblosen, gewöhnlichen Knöpfen. 14-tägige Endo-Platte.
- „ 9, 15. Ordenssternformen der Normalform (No. 1). Die mehr erhabenen, hier dunkel hervortretenden, dunkelorangefarbenen Anteile wechseln ab mit flacheren, hier helleren, rosafarbenen.
- „ 19, 21. 6 Wochen alte Kolonien der Normalform (No. 1) mit farblosen bis rosafarbenen Knöpfen, die zum Teil als rosafarbene, flache Sektoren bis an die Peripherie wachsen und hier in Form pilzförmiger Vegetationen hinauswuchern.
- „ 29. 2-tägige Kolonie der gehemmten, schleimigen, blaßgelben Form (No. 6).
- „ 25, 31. Typische Kolonie der Normalform (No. 1). In der Mitte flache, rosafarbene Zentraldelle mit leistenförmiger, zirkulärer Erhebung, am Rande mächtiger, erhabener, orangefarbener Wall mit mehreren flach vertieften, rosafarbenen Sektoren und Spalten. 10-tägige Endo-Platte.
- „ 32. 6-wöchige Kolonien der gehemmten, blaßgelben Form (No. 3) mit zahlreichen, farblosen Knöpfen und pilzförmigen Auswüchsen.
- „ 68. 14-tägige Kolonie der gehemmten, orangefarbenen Form (No. 2) mit (helleren) rosafarbenen Randsektoren.

## B. typhi.

- Fig. 28. B. typhi No. 8581. 2-tägige Endo-Platte: zwischen zahlreichen Zwergformen wenige große Kolonien der Normalform.
- „ 30. B. typhi No. 8581. 14-tägige Kolonie der durchsichtigen, dunkelrosa Zwergform mit zahlreichen, undurchsichtigen, farblosen Knöpfen, die einen Umschlag in die undurchsichtige, farblose Normalform bedeuten. Manche Knöpfe sind an die Peripherie in Form von undurchsichtigen, farblosen Sektoren herangewachsen.
- „ 35. Ebenso wie Fig. 30, nur 9-tägige Kolonie.
- „ 36. B. typhi (No. 8581). 14-tägige Endo-Platte zeigt zahlreiche, kleine Kolonien der Zwergform mit Knöpfen, dazwischen eine große Kolonie der farblosen Normalform.
- „ 38. B. typhi No. 8547. 14-tägige Endo-Platte zeigt Kolonien der Zwergform mit Knöpfen (Rückschlag in die Normalform).
- „ 39. Ebenso wie Fig. 30, nur 5-tägige Kolonie.
- „ 40. Ebenso wie Fig. 30.
- „ 42. Ebenso wie Fig. 30.
- „ 43. B. typhi No. 8581. 15-tägige Kolonie der weniger durchsichtigen, hellrosa Zwergform mit zahlreichen, farblosen, undurchsichtigen Knöpfen; einer davon ist zu einem großen, lappigen Auswuchs herausgewuchert.



- Fig. 46.** *B. typhi* No. 8547. 17-tägige Endo-Platte zeigt einige Zwergformen und mehrere Normalkolonien.
- „ 49. Wie Fig. 36.
- „ 50. *B. typhi* No. 8581. 15-tägige Endo-Platte zeigt Kolonien der durchsichtigen, dunkelrosa Zwergform mit undurchsichtigen, farblosen Knöpfen, die zum Teil stark gewuchert sind.
- „ 51. *B. typhi* No. 7300. 7-tägige Endo-Platte zeigt zahlreiche, granuliert Kolonien der Zwergform, dazwischen eine große Kolonie der Normalform.
- „ 52. *B. typhi* No. 8581. 5-tägige Endo-Platte zeigt Kolonien der durchsichtigen, dunkelrosa Zwergform mit Knöpfen, sowie knopffreie Kolonien der weniger durchsichtigen, hellrosa Zwergform.
- „ 53. *B. typhi* No. 7300. 2-tägige Endo-Platte zeigt kleinere, granuliert, rosa durchsichtige Kolonien der Zwergform mit weniger durchsichtigen Randwällen (Umschlag?), eine größere, weniger durchsichtige, farblose Kolonie der Normalform.
- „ 54. *B. typhi* No. 8581. 14-tägige Kolonien der durchsichtigen, dunkelrosa Zwergform ganz bedeckt von undurchsichtigen, farblosen Knöpfen, mit eben solchen Randauswüchsen in Form einer fast kontinuierlichen Randkrause.
- „ 62. *B. typhi* No. 8581. 15-tägige Kolonie der durchsichtigen, dunkelrosa Zwergform mit zum Teil durchsichtigen, rosafarbenen, zum Teil undurchsichtigen, farblosen Knöpfen. Einige der letzteren sind zu einem großen Auswuchs herausgewuchert, der die Mutterkolonie an Größe übertrifft.

***B. paratyphi* B No. 7256.**

- Fig. 55.** 2-tägige Endo-Platte in natürlicher Größe zeigt links die farblose Normalform, rechts die rosafarbene Varietät.

***B. dysenteriae*.**

- Fig. 37.** *B. dysenteriae* Flexner No. 2906. 7-tägige Endo-Platte zeigt zwischen zahlreichen Zwergkolonien wenige normalgroße.
- „ 41. *B. dysenteriae* Kruse-Shiga No. 8311. 5-tägige Endo-Platte zeigt knopfführende Kolonien neben knopffreien. Die Knopfbildung war in diesem Falle nicht mit einem erblich fixierten Umschlag verbunden.
- „ 45. *B. dysenteriae* Y No. 804. 10-tägige Endo-Platte zeigt knopfführende und knopffreie Kolonien der farblosen Normalform No. 1.
- „ 47. *B. dysenteriae* Y No. 804. 19-tägige Endo-Platte zeigt zahlreiche, kleine bis kleinste Kolonien der Zwergform No. 3, dazwischen eine große Kolonie der gehemmten, rosafarbenen Form No. 2.
- „ 48. *B. dysenteriae* Y No. 804. 15-tägige Endo-Platte zeigt stark knopfbeladene Kolonien der farblosen Normalform No. 1.

***M. candidans*.**

- Fig. 1.** 5-tägige Agarplatte mit 1 Proz. Brechweinstein zeigt zwischen kleinsten Kolonien eine normalgroße.

***Sarcina lutea* No. 1065.**

- Fig. 3.** 5-tägige, gewöhnliche Agarplatte zeigt Kolonien dicht besät mit Knöpfen und besetzt mit kleinen bis großen Randauswüchsen.

**Literatur.**

- Altmann, K., u. Rauth, A., Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 7. 1910. S. 623 bis 655.
- Baerthlein, K., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1915. S. 272—279.
- Deutsch. med. Wochenschr. 1912. No. 31.
- Bail, O., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1915. S. 234—248.
- Beijerinck, M., Folia microbiol. T. 1. 1912. p. 1—97.
- Eisenberg, Ph., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1905. S. 188—194.
- Ibid. Bd. 33. 1912. S. 305—321.
- Ibid. Bd. 66. 1912. S. 1—19.
- Ibid. Bd. 73. 1914. S. 81—123.
- Ibid. Bd. 73. 1914. S. 449—488.
- Ergebn. d. Immunitätsf. Bd. 1. 1914. Art. „Ueber Mutationen bei Bakterien“. S. 28 bis 142.
- Engeland, O., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1913. S. 260—269.

- Firtsch, G., Arch. f. Hyg. Bd. 7. 1888. S. 369—401.  
Fromme, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 445—453.  
Gildemeister, E., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916. S. 209—225.  
Goebel, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. S. 376—379.  
Heyn, A., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 161—166.  
Jacobsen, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 56. 1911.  
Klein, J., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 73. 1912. S. 87—118.  
Lehmann, E., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1915. S. 289—300.  
Lehmann, K. B., zit. in Lehmann-Neumann, Bakteriolog. Diagn. 5. Aufl. S. 382 bis 383.  
Levy, F., zit. ebendas.  
v. Lingelsheim, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. S. 577—582.  
Müller, R., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 97—106.  
Neumann, R. O., Zit. in Lehmann-Neumann, Bakteriolog. Diagn. 5. Aufl. S. 382.  
Nyberg, C., Annal. Acad. Sc. Fennic. Ser. A. T. 3. No. 6. Helsinki 1912.  
Olsson, P. G., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 23—37.  
Penecke, Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1917. S. 249—257.  
Prell, H., Ibid. S. 324—339.  
Salzmann, M., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. S. 105—112.  
Schmitz, K. E. F., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1915. S. 369—417.  
Stamm, J., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 76. 1914. S. 469—542.  
Villinger, A., Arch. f. Hyg. Bd. 21. 1894. S. 101—113.  
Vay, F., Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. S. 305—317. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Zusammenhang des Paratyphus der Tiere mit dem Paratyphus des Menschen.

Von Prof. Dr. **Max Müller**, München.

Die vorliegende Abhandlung stellt dem Paratyphus des Menschen den Paratyphus der Tiere gegenüber. Hiermit soll zum Ausdruck gebracht und in den folgenden Ausführungen dargelegt werden, daß es eine ätiologisch gleichartige, von Tier zu Mensch und Mensch zu Tier übertragbare Infektionskrankheit gibt, die beim Menschen unter der Bezeichnung „Paratyphus“ bekannt ist.

### I.

Die mit dem Namen Paratyphus bezeichnete Infektionskrankheit des Menschen ist erst in neuerer Zeit vom Abdominaltyphus abgetrennt worden.

Achard und Bensaude, Schottmüller und Kurth lenkten unabhängig voneinander die Aufmerksamkeit der Bakteriologen auf diese unter dem klinischen Bilde des Abdominaltyphus verlaufende, aber nicht durch den Typhusbazillus verursachten Krankheitsfälle hin. Die epidemiologische Herkunft dieser Fälle blieb hierbei zunächst ungeklärt.

Geschichtlich betrachtet, gebührt aber das Verdienst, später als Paratyphus bezeichnete Krankheitsfälle zuerst vom Typhus abdominalis abgetrennt zu haben, Bollinger. Diesem bezeichnete als Sepsis

intestinalis vom Tier stammende, auf den Menschen in typhusähnlicher Form übertragbare Krankheitsformen, von denen wir heute wissen, daß sie durch den Paratyphusbazillus bedingt sind.

Aber auch in rein bakteriologischer Hinsicht nimmt der Paratyphusbazillus eine eigenartige Stellung ein, weil der Paratyphusbazillus wohl derjenige Mikroorganismus ist, der am häufigsten unter den verschiedensten Benennungen entdeckt worden ist. Die vergleichend-bakteriologische Forschung ergab, daß der zuletzt gefundene, als Paratyphus B-Bazillus bezeichnete pathogene Mikroorganismus des Menschen biologisch identisch ist mit dem Hogcholerabazillus, der Aertryck-Gruppe der Fleischvergiftungsbakterien, dem Mäusetyphus-, dem Psittakosebazillus und einer weiteren Anzahl verschieden benannter, biologisch aber gleichartiger Bakterien. Aus dem weiterhin erfolgten Auffinden von parasitären und saprophytären Bakterien mit den Eigenschaften des Paratyphus B-Bazillus auch im gesunden Menschen, in kranken und gesunden Tieren und in der Außenwelt entstand dann das die bakteriologische Forschung aufs eingehendste beschäftigende Paratyphusproblem.

Salmon und Smith haben 1885 zuerst bei Schweinen den hier in Frage stehenden Mikroorganismus gefunden, als Hogcholerabazillus bezeichnet und denselben für den Erreger der Schweinepest gehalten. De Nobèle wies dann zuerst darauf hin, daß die von ihm als Aertryckgruppe bezeichneten Fleischvergiftungsbakterien auch als Hogcholeragruppe bezeichnet werden könnte, da diese Gruppe von Fleischvergiftungsbakterien alle Eigenschaften des Hogcholerabazillus aufwies. Als sich dann späterhin der Paratyphus B-Bazillus übereinstimmend mit diesen Fleischvergiftungsbakterien erwies, wurde der Vorschlag Uhlenhuths, diese Gruppe als Paratyphusgruppe im Gegensatz zu der Enteritisgruppe zu bezeichnen, allgemein angenommen und derselben alle biologisch dem Paratyphusbazillus gleiche Bakterienarten — Mäusetyphusbazillus, Psittakosebazillus u. a. — zugerechnet. Aber die eigentliche Beziehung des Paratyphus hominis zu den verschiedenen, durch biologisch gleiche Bakterien bedingten Tierkrankheiten blieb unklar, trotzdem insbesondere die Fleischvergiftungen eine gewisse Beziehung der Paratyphusinfektion des Menschen zu ätiologisch gleichen Infektionen der Schlachttiere längst ergeben hatten. Bemerkenswert ist es auch, daß Achard und Bensaudé, als sie die ersten „paratyphösen“ Infektionen beim Menschen festgestellt hatten, angaben, daß es sich hierbei um die Psittakosis handeln könne. Uhlenhuth und Hübener folgerten dann aus dem häufigen Vorkommen der bisher nur für Schweine als pathogen betrachteten Schweinepestbakterien bei gesunden und kranken Schweinen, daß diese Bakterien auch auf die Schlachtprodukte des Schweines und mit diesen in den menschlichen Körper übergehen und dort angetroffen werden müßten. Der Ansicht einer Pathogenität des Bacillus suipestifer für den Menschen wurde aber insbesondere von v. Ostertag mangels hierfür sprechender einwandfreier Beobachtungen widersprochen.

Die Lösung des Paratyphusproblems wurde durch einen anderen Umstand noch aufs äußerste erschwert. Bollinger hatte 1880 zuerst darauf hingewiesen, daß gewisse, unter typhusähnlichen Erscheinungen verlaufende Krankheiten des Menschen als selbständige und vom Typhus abdominalis abzutrennende Krankheiten aufzufassen seien, und daß diese Krankheiten durch den Genuß des Fleisches von Tieren hervorgerufen seien, welche an septischen und pyämischen Krank-

heiten gelitten hatten. Dieser Hinweis Bollingers wurde zum fleischhygienischen Leitsatz, an dem auch festgehalten wurde, als in einer Reihe von Fleischvergiftungen Fleischvergiftungsbakterien gefunden worden waren. Der sogenannte septische Beschaubefund wurde als pathognostisch für jene Krankheiten der Haustiere angesprochen, welche in Form der „Fleischvergiftung“ auf den Menschen übertragbar sind. Diese Annahme Bollingers führte dazu, daß die klinischen Erscheinungen und pathologisch-anatomischen Veränderungen jener Krankheiten der Schlachttiere, welche auf einer wirklichen Infektion mit Fleischvergiftungsbakterien beruhten und deshalb Veranlassung zu Fleischvergiftungen gaben, ungenügend erkannt und beachtet wurden. Hierzu kam, daß man in jenen Infektionen, die späterhin als Paratyphus des Menschen bezeichnet wurden, eine „spezifische“ Krankheit des „Menschen“ sah, deren ätiologische Beziehung zu den Infektionen der Tiere mit Bakterien der Paratyphusgruppe umstritten blieb. Und schließlich führte die häufige Beobachtung der postmortalen Infektion des Fleisches gesunder Schlachttiere mit vom Menschen stammenden Paratyphusbakterien dazu, die intravitale Infektion von Schlachttieren, gestützt auf die These der Verschiedenartigkeit der vom Menschen und Tier stammenden Paratyphusbakterien, überhaupt als ungeklärt und zweifelhaft dafür erscheinen zu lassen, daß die Paratyphusinfektionen der Tiere für den Menschen in Frage kommen. Aus dem Widerstreit der Meinungen über alle diese Fragen setzt sich das Paratyphusproblem zusammen. Für das vielseitige wissenschaftliche Mühen, die im Paratyphusproblem enthaltenen mannigfachen und insbesondere für die menschliche Gesundheit so wichtigen Fragen richtig zu beantworten, trifft wohl das Wort Goethes aus Wilhelm Meisters Wanderjahren zu: „Ganze, Halb- und Viertelsirrtümer sind gar schwer und mühsam zurechtzulegen, zu sichten und das Wahre dahin zu stellen, wohin es gehört“.

Auch ich nehme diese Worte für mich in Anspruch, wenn ich in den folgenden Ausführungen den Versuch mache, darzulegen, daß es eine dem Paratyphus des Menschen entsprechende, ätiologisch gleichartige und auf den Menschen übertragbare Infektionskrankheit der Tiere, den „Paratyphus der Tiere“, gibt. Man kann, oder sollte richtiger umgekehrt sagen, daß wir bei den Tieren die dem Paratyphus des Menschen entsprechende Infektion längst kannten, bevor der Begriff „Paratyphus“ für den Menschen aufgestellt worden ist, daß es aber bis heute nicht gelungen ist, die gegenseitigen Beziehungen zwischen dieser Infektion des Menschen und den ätiologisch gleichen Infektionen der Tiere in einwandsfreier und richtiger Weise darzulegen. Dieses aber soll der Zweck meiner Ausführungen sein.

Hierbei werden wir an der Hand der folgenden Ausführungen einen zum Ziele führenden Weg finden, wenn wir erkennen, daß die Hypothese Bollingers über die ätiologischen Beziehungen der sogenannten Septikämie und Pyämie der Schlachttiere zu den Fleischvergiftungen des Menschen für die Klarlegung des Paratyphusproblems unbrauchbar ist und demzufolge in fleischhygienischer Hinsicht aufgegeben werden muß, und fernerhin, wenn wir erkennen, daß die Erklärung für die angenommene Verschiedenheit der Paratyphusbakterien bei Mensch und Tier in der Variabilität der Virulenz dieser Bakterien liegt. Von diesen leitenden Gesichtspunkten aus habe ich versucht, „zurechtzulegen, zu sichten und das Wahre dahin zu stellen, wohin es gehört“.

## II.

Den ersten Zusammenhang der heute als Paratyphus des Menschen bezeichneten Erkrankung mit Tierkrankheiten haben wir unter der Bezeichnung Fleischvergiftung kennen gelernt. Soweit die Fleischvergiftungen bakteriologisch geklärt werden konnten, waren es zwei biologisch verwandte, nur serologisch unterscheidbare Bakterientypen, die diese Erkrankungen von Mensch und Tier bedingten: der *Bacillus enteritidis* Gärtner und der *Bacillus paratyphi* B. — Aber nicht nur das Fleisch von kranken notgeschlachteten Tieren, sondern auch das Fleisch von gesunden Schlachttieren wurde als Träger dieser beiden Bakterienarten gefunden. Diese letzteren Fälle scheiden bei den Maßnahmen der Verhütung der Fleischvergiftungen durch die Fleischschau aus, da die postmortale Infektion von Fleisch und Fleischbrei weder unter den ursprünglichen Begriff der Fleischvergiftung fällt, noch auf dem Wege einer Fleischkontrolle völlig zu verhindern ist. Die Fleischvergiftung im ursprünglichen Sinne des Wortes sollte eine Krankheit sein, die durch den Genuß des Fleisches krank gewesener Tiere von diesen unter dem Bilde einer schweren Gastroenteritis auf den Menschen übertragen wird. Ich habe mit Rücksicht auf die Infektionsmöglichkeit des Menschen mit Paratyphus- und Enteritisbakterien durch das Fleisch gesunder Tiere als Zwischenträger, in gleicher Weise, wie dies bei Milch, Mehl, Grieß u. a. Nahrungsmitteln der Fall sein kann, den auch von v. Ostertag und Edelman angenommenen Vorschlag gemacht, diese Fälle den Nahrungsmittelvergiftungen zuzurechnen, weil hierdurch die postmortale Infektion des Fleisches zum Ausdruck gebracht wird, im Gegensatz zur wirklichen Fleischvergiftung, die durch die intravitale Infektion des Fleisches bedingt wird. Diese Unterscheidung erscheint angezeigt, bis die Beziehungen des Paratyphus des Menschen zu den hier in Frage kommenden Tierkrankheiten genügend geklärt sind.

Die Krankheiten der schlachtbaren Haustiere, die zu der Entstehung der Fleischvergiftung des Menschen führen, sind klinisch als solche nicht zu erkennen. Ebenso wenig ist es möglich, fleischbeschaulich jene Fälle zu erkennen, die durch Fleischgenuß schädigend auf den Menschen in Form der Fleischvergiftung wirken; auch der analoge Fall beim Menschen: rein pathologisch-anatomisch eine Infektion mit dem *Bacillus enteritidis* Gärtner oder *paratyphi* B zu erkennen, liegt außerhalb des Bereiches der Möglichkeit. Der Anschauung v. Ostertags, daß der „geschulte Sachverständige auch in den Fällen frühzeitiger Notschlachtung bei schweren, vermutlich durch Fleischvergiftungsbakterien verursachten Septikämien an den Trübungen des Leberparenchyms, des Myokards und der Nierenrinde, an kleinen Blutungen unter den serösen Häuten und in den Schleimhäuten und an den Schwellungen der Fleischlymphdrüsen, und zwar zeitlich und graduell in der angegebenen Reihenfolge, gewöhnlich Anhaltspunkte für das Vorliegen des Verdachtes der Septikämie und der Schädlichkeit des Fleisches findet“, vermag ich nicht beizustimmen.

Die alte These Bollingers, auf die sich v. Ostertag hierbei hinsichtlich der Prophylaxe der Fleischvergiftungen stützt, daß nämlich die „Pyämie und Septikämie“ unserer Schlachttiere für die menschliche Gesundheit wichtiger und bedeutender seien als der Milzbrand und

Rotz, weil erstere viel häufiger seien als letztere und die Gifte der Pyämie und Septikämie durch Kochen nicht zerstört werden, besteht nicht zu Recht. Nach den Ausführungsbestimmungen C des Gesetzes, betreffend die Schlachtvieh- und Fleischschau vom 3. Juni 1900 ist die „jauchige Blutvergiftung“ die wichtigste Krankheit für die Fleischschau, da auf sie die meisten Fleischvergiftungen zurückzuführen sind. . . . Werden beim geschlachteten Tiere trübe, graugelbe Verfärbung der Leber und Nieren, trübe, graue Verfärbung des Herzfleisches, wodurch es dem gekochten Fleisch ähnlich wird, vielleicht auch punktförmige Blutungen unter den serösen Häuten und Schwellung mit blutiger, wässriger Durchtränkung sämtlicher Lymphdrüsen gefunden, so ist das Vorhandensein einer jauchigen Blutvergiftung anzunehmen.“

Nach § 33 Z. 7 des Gesetzes, betreffend die Schlachtvieh- und Fleischschau, ist der ganze Tierkörper als untauglich zum Genuß für den Menschen anzusehen, wenn festgestellt worden ist: „eitrige oder jauchige Blutvergiftung, wie sie sich anschließt namentlich an eitrige oder brandige Wunden, Entzündungen des Euters, der Gebärmutter, der Gelenke, der Sehnenscheiden, der Klauen und Hufe, des Nabels, der Lungen, des Brust- und Bauchfells, des Darmes“.

Die fleischbeschauliche Erfahrung hat gezeigt, daß diese auf die Bollingersche These sich stützenden Bestimmungen nicht geeignet waren, das Vorkommen von Fleischvergiftungsepidemien zu verhindern. In erster Linie war dieses Versagen der Bestimmungen darauf zurückzuführen, daß es sich in den Fällen, die fleischbeschaulich als Septikämien angesprochen wurden, wie ich gezeigt habe, gar nicht um Septikämien, sondern um Saprämien handelte. Hierbei ist Saprämie der Kollektivbegriff für die Folgezustände der Wundinfektionen mit ubiquitären, saprophytisch vegetierenden Bakterienarten, deren Pathogenitätsvermögen einen traumatischen Insult des Tierkörpers zur Vorbedingung hat.

Mit dieser aus den Tatsachen gewonnenen Erkenntnis ist die Grundlage geschaffen, von der aus die eigentliche Klärung der Frage: „welche Krankheiten der Haustiere zu den Fleischvergiftungen Veranlassung geben, und wie die Fleischschau die Inverkehrgabe solchen Fleisches verhüten kann“, überhaupt erst in Angriff genommen werden kann. Die Lehre der „Septikämie“, wie sie in den Lehrbüchern der Fleischschau dargelegt wird, ist hierzu ungeeignet. v. Ostertag verkennt vollkommen die Bedeutung meiner Darlegungen über die Saprämie, wenn er in der neuesten Auflage seines Handbuches den Versuch macht, den Saprämiebegriff, wie ich ihn befundgemäß auf Grund umfangreicher Untersuchungen dargelegt habe, abzulehnen, und statt dessen den Vorschlag macht, den fleischbeschaulichen unklaren Septikämiebegriff weiter beizubehalten.

Die „Septikämie“ bildet sowohl in der Human- als auch Veterinärmedizin eine der am häufigsten gestellten Diagnosen, obschon der Begriff dessen, was als Septikämie bezeichnet werden soll, von jeher ein durchaus unklarer war und auch geblieben ist. Schon die direkte Beantwortung der Frage: „Was ist Septikämie?“ wird wissenschaftlich meistens umgangen durch Angaben darüber, woran das Vorhandensein der Septikämie zu erkennen sein soll. So ist schließlich das Wort „Septikämie“ infolge seiner begrifflichen Unklarheit zu dem Wort der Medizin geworden, „das sich dort einstellt, wo klare Begriffe fehlen“. Diese begriffliche Unklarheit des Wortes Septikämie macht sich aber besonders auf dem Ge-

biete der Fleischhygiene bemerkbar, weil wir hier mit der Septikämiediagnose nur dann richtig handeln können, wenn „Septikämie“ ein klarer, einwandfreier Begriff ist. Der fleischhygienische Septikämiebegriff ist, wie ich schon an anderer Stelle dargelegt habe, ein Begriffskonglomerat, das sich aus dem Septikämiebegriff im Sinne der Humoralpathologie, dem Begriff im Sinne der Solidar- und Zellulärpathologie und dem Begriff im Sinne der Bakteriologie zusammensetzt. Von der Bollingerschen These ausgehend, werden bei der fleischbeschaulichen Septikämiediagnose diese drei Septikämiebegriffe unter Zuhilfenahme unbewußt falscher Ideenassoziationen zusammengewürfelt und gleichgesetzt. Infolgedessen läßt sich mit dem alten fleischbeschaulichen Septikämiebegriff alles machen, was man will. Man kann denselben anwenden, wo man will. Sind Veränderungen an den Organparenchymen nachzuweisen, so ist die Septikämiediagnose berechtigt, und sind keine Veränderungen vorhanden, so ist sie auch berechtigt; v. Ostertag sagt an anderer Stelle seines Lehrbuches: „daß das Fehlen gröberer Läsionen an den inneren Organen oder die Geringfügigkeit der Veränderungen, die anscheinend zu den schweren Erscheinungen während des Lebens in gar keinem Verhältnis stehen, in jedem Fall den Verdacht auf Sepsis und Schädlichkeit des Fleisches erregen müssen“. Je nach der persönlichen Anschauung wird demgemäß ein fleischbeschaulicher Befund von dem einen als „Septikämie“ angesprochen, während der andere Sachverständige im gleichen Falle das Vorliegen von „Septikämie“ als nicht vorhanden erachtet. Die sachverständige Unsicherheit wird dann noch vergrößert durch den Umstand, daß Fleischvergiftungen sich gerade durch die Inverkehrgabe von Fleisch ereigneten, das fleischbeschaulich nicht septikämieverdächtig war, während Fleisch, dessen Organe deutliche Erscheinungen der Septikämie im bisherigen fleischbeschaulichen Sinne zeigten, vom Menschen verzehrt werden kann, ohne daß Erkrankungen in Form der Fleischvergiftung erfolgen. Demnach kann die alte Lehre nicht stimmen!

Für die Prophylaxe der Fleischvergiftungen kommt die Septikämie im Sinne der Humoralpathologie überhaupt nicht in Frage. Die Septikämie im Sinne der Solidar- und Zellulärpathologie ist für die Prophylaxe der Fleischvergiftungen ebenfalls nicht brauchbar, weil sie in den wenig gefährlichen Saprämien irrtümlicherweise die Fälle vermutet, welche zu Fleischvergiftungen Veranlassung geben können, und hierdurch die wirklich gefährlichen Fälle nicht berücksichtigt. Die Fälle, welche zu Fleischvergiftungen Veranlassung geben, sind Septikämien im bakteriologischen Sinne des Wortes, d. h. es sind, wie Gärtner durch den Fall von Frankenhäusen zuerst dargelegt hat, Infektionen der Schlachttiere, die durch einen spezifischen Mikroorganismus derart verursacht sind, daß sich der spezifische Erreger in großer Zahl im Blut und den Organen nachweisen läßt. Wenn die Fleischvergiftungen demnach bakteriologische Septikämien sind, so kann andererseits der weite bakteriologische Septikämiebegriff doch nicht ohne weiteres mit „Fleischvergiftung“ gleichgesetzt werden. Jede spezifisch bakterielle Septikämie wird dem Erreger oder dem Krankheitsverlauf entsprechend mit besonderem Namen belegt. Für die Krankheiten der Tiere, die zu den Fleischvergiftungen Veranlassung geben können, sind besondere Namen bislang nicht vorgeschlagen worden, weil man die „Pyämie und Septikämie im Sinne Bollingers“

hierfür als in Betracht kommend annahm. Da diese Annahme, wie ich im vorstehenden kurz dargelegt habe, nicht zu Recht besteht, die Fleischvergiftungen vielmehr spezifisch bakterielle Septikämien sind, die nach den bisherigen Beobachtungen dadurch zustande kamen, daß die betreffenden Schlachttiere entweder mit dem *Bacillus enteritidis* Gärtner oder dem *Bacillus paratyphi* B infiziert waren, so werden die Krankheitszustände dieser Tiere, um endlich einmal Worte mit festem Begriff hierfür zu schaffen, zweckmäßig als Enteritis- und Paratyphusseptikämie der Schlachttiere bezeichnet.

Die Beobachtungen über das Vorkommen beider Arten von Bakterien bei den verschiedenen Haustieren werden immer häufiger und sollen hier keine Besprechung finden. Demgegenüber sind die Beobachtungen, in denen diese Bakterien als Fleischvergiftungsbakterien sowohl beim krank gewordenen Menschen als auch beim notgeschlachteten Tiere derart nachgewiesen werden konnten, daß die intravitale Infektion der Tiere außer Frage steht, in der Literatur noch ziemlich selten.

Die Klarlegung derENZootiologie jener Krankheiten der Tiere, welche Fleischvergiftungen beim Menschen im Gefolge haben, also der Enteritis- und Paratyphusseptikämie, stößt vielfach von vornherein auf Schwierigkeiten, weil die fleischhygienische Klarlegung und Untersuchung erst nach dem Auftreten der Erkrankungen von Menschen und der Sicherung der Diagnose beim Menschen beginnen kann. Da hierbei die Notschlachtung in der Regel wenigstens 8 Tage zurückliegt, so ist von dem tierischen Material meist nur mehr wenig vorhanden. Nach dieser Zeit ist das rohe Fleisch in der Regel verzehrt; das sonst noch vorhandene Fleisch ist dann eingesalzen, eingesäuert oder gekocht. Die leicht verderbenden Organe sind entweder gleich verspeist oder vernichtet worden. Hieraus erklärt es sich, weshalb es nur bei einer geringen Zahl von Fällen bislang gelungen ist, die Fleischvergiftungsbakterien gleichzeitig bei den erkrankten Personen und in dem von dem notgeschlachteten Tiere stammenden Fleische nachzuweisen.

Dem Arzt genügt für die Diagnose „Fleischvergiftung“ die Feststellung, daß das beschuldigte Fleisch von einem notgeschlachteten Tiere stammte und daß, sofern noch Fleisch vorhanden ist, dieses „Fleischvergiftungsbakterien“ enthält. Für den Tierarzt wird hierbei dann die Schuldfrage dahin gehend aufgerollt, ob ein Verstoß gegen die Bestimmungen des Fleischbeschaugesetzes vorliegt. Ich habe im vorstehenden schon dargelegt, daß der fleischbeschauliche Septikämiebegriff, wie er bislang Anwendung fand, nicht geeignet ist, Fleischvergiftungen beim Menschen zu verhüten. Da im Fleischbeschaugesetz eine bestimmungsgemäße bakteriologische Untersuchung notgeschlachteter Tiere nicht vorgesehen ist, kann es dem gewissenhaftesten Tierarzt bei der Ausübung der Fleischschau zustoßen, daß er Fleisch von Schlachttieren mit einer Enteritis- oder Paratyphusseptikämie zum Konsum für den Menschen zuläßt. Gerade diese Fälle zeigen, wie im nachstehenden noch ausgeführt werden soll, keine ausgesprochene pathologisch-anatomische Merkmale, die eine bestimmungsgemäße Verhinderung der Inverkehrgabe solchen Fleisches zulassen. Es bedarf meines Erachtens in derartigen Fällen gar nicht des Bestrebens, die Schuldfrage des Beschauers dadurch zu verneinen, daß die Möglichkeit der postmortalen Infektion des Fleisches als nicht ausgeschlossen betrachtet wird, weil hiermit der Richter in der falschen Auffassung belassen wird, daß es dem Tierarzt möglich sei, intra-



vital infiziertes pathogenes Fleisch auf Grund pathologisch-anatomischer Beurteilung zu erkennen und vom Verkehr ausschalten zu können. Wir bedürfen in derartigen Fällen nur des Mutes, einzugestehen, daß wir die Enteritis- und Paratyphusseptikämien der Schlachttiere weder klinisch noch pathologisch-anatomisch hinreichend genug kennen, um ohne bakteriologische Prüfung eine genügende Gewähr dafür übernehmen zu können, daß ein notgeschlachtetes Tier keine Enteritis- und Paratyphusbazillen im Fleisch und den Organen enthält.

Ich habe Gelegenheit gehabt, im Anschluß an zwei Fleischvergiftungs-epidemien diese in veterinär-hygienischer Hinsicht eingehender bearbeiten zu können, über die im Abschnitt III näher berichtet werden soll. Der eine Fall betrifft eine Enteritisseptikämie des Rindes (Fleischvergiftung von St. Johann i. Els.), der andere eine Paratyphus B-Septikämie des Rindes (Fleischvergiftung von Kochel).

Wie ich schon erwähnte, sind unter der großen Zahl von Fleischvergiftungen nur wenige Fälle in der Literatur verzeichnet, in denen das Vorkommen von Fleischvergiftungsbakterien gleichzeitig bei Mensch und Tier derartig festgestellt worden ist, daß hieraus auf die intravitale Infektion des Fleisches dieser Tiere geschlossen werden kann. Von den als echte Fleischvergiftungen anzusehenden Fällen, die in dieser Hinsicht Interesse bieten, seien folgende Angaben aus der Literatur erwähnt.

Ueber die erste ätiologisch geklärte Fleischvergiftungsepidemie von Frankenhausen schreibt Gärtner:

„Auf einem Gute bei Frankenhausen a. K. war im Mai 1888 ein Rind an Durchfällen mit Schleimabgang erkrankt, der herbeigerufene Tierarzt verordnete Leinsamenabkochung, Stärkeschleimklystiere und Opiumtinktur. Am 9. Mai abends wurde das Tier notgeschlachtet. Die Besichtigung ergab weder eine Vergrößerung der Milz noch der Leber, oder eines anderen Organes, dagegen waren die dünnen Därme an einigen Stellen rötlich gefärbt. Das Fleisch war in seinem Aussehen von normalem gesundem Fleisch nicht zu unterscheiden, ebenso wenig zeigte es einen abnormen Geruch. Der Medizinalbeamte konnte später diese Angaben des Tierarztes bestätigen. Nachdem der Tierarzt das Fleisch für ‚genießbar‘ erklärt hatte, wurde es am 11. Mai verpfundet.

Am gleichen Tage, abends 8 Uhr, aß der 21-jährige kräftige W. 800 g des rohen Fleisches, welches tüchtig mit Pfeffer und Salz bestreut war; um 10 Uhr desselben Abends erkrankte er mit Erbrechen und Durchfall. Nachdem diese Erscheinungen während der Nacht und des nächsten Tages angehalten hatten, erfolgte der Tod am 13. morgens 7 Uhr. In den Tagen vom 11.—18. Mai erkrankten 58 Personen in 25 Familien. Alle Erkrankten, mit Ausnahme einer Person, hatten von dem Fleische des notgeschlachteten Rindes gegessen, und zwar 12 Personen rohes Fleisch, eine halbbröte, 10 gebratene oder gekochte Leber, 2 Lungenmus, 29 gekochtes Fleisch und Suppe, 3 Suppe allein.

36 Personen blieben trotz des Genusses von gekochtem Fleisch und Suppe oder gebratener Leber gesund, während alle Personen, welche rohes Fleisch genossen hatten, erkrankten. Auf dem Gute befanden sich 180 Stück Rindvieh. Das fragliche 2 Jahre alte Stück Rindvieh hatte nicht geboren, war bis dahin gesund gewesen, stand seit Monaten zwischen den übrigen Tieren an derselben Stelle und erhielt dasselbe Futter wie die anderen Rinder. Weder vorher noch nachher wurden ähnliche Erkrankungen beobachtet. Der Gesundheitszustand unter den Tieren der Domäne war und blieb ein guter. In den Ausstrichpräparaten des Fleisches fanden sich zahlreiche kurze, ziemlich kräftige Bakterien, die als eine Bakterienart angesehen werden konnten.

Die aus der Milz des W. hergestellten Ausstrichpräparate zeigten dieselben Bakterien und zwar wiederum ohne Beimengungen anderer; aber dieselben waren entsprechend der kurzen Dauer der Erkrankung des W. nicht so zahlreich wie in dem Kuhfleisch. Die Plattenkultur aus dem Rindfleisch und aus einem Blutstropfen aus der Milz des W. ergab zahlreiche Kolonien von gleicher Beschaffenheit.

Aus dem Vorstehenden ergibt sich, daß aus dem Rindfleisch und den Or-

ganteilen des W. ein und derselbe Organismus, und zwar in Reinkultur, herausgezüchtet worden ist. Wie die Kultur aus dem notgeschlachteten Rinde und aus dem gestorbenen Menschen nur eine Bakterienart lieferte, so zeigt auch das Mikroskop in den Organen des Rindes und des Menschen wiederum nur eine Art von Mikroorganismen.

Die Befunde Gärtners lassen keinen Zweifel darüber aufkommen, daß das für die Fleischvergiftung in Frage kommende Rind an einer Septikämie erkrankt war, die durch den von Gärtner als *Bacillus enteritidis* benannten Mikroorganismus hervorgerufen war.

Bei der Fleischvergiftung zu Cotta 1889 (116 Erkrankungen mit 4 Todesfällen) fanden Neelsen, Johne und Gärtner im Fleische und Knochenmark einer wegen eitriger Euterentzündung notgeschlachteten Kuh, wie auch im Blute, in Milz und Darminhalt zweier verstorbener Menschen gleichfalls den *Bacillus enteritidis*. Das Fleisch war von gutem Aussehen und besaß einen guten Geruch.

In Gaustadt erkrankten 1891 in einer Irrenanstalt 81 Personen, von denen 4 starben. Aus 3 Leichen züchtete Holst den *Bacillus enteritidis*. Die Erkrankungen waren bedingt durch den Genuß von gebratenem Fleisch eines Kalbes, das 14 Tage vor der Schlachtung an Enteritis gelitten hatte.

Bei der Fleischvergiftung von Moorseele 1892 (80 Erkrankungen mit 4 Todesfällen) stammte das schädliche Fleisch von 2 Kälbern her, von denen das eine gestorben, das andere notgeschlachtete war. Beide Kälber hatten an starkem Durchfall gelitten. Die Muskulatur soll nicht verändert gewesen sein; die Därme sollen dunkelrot und die Leber geschwollen gewesen sein. Aus dem Marke der Tibia eines der beiden Kälber wie auch aus der Leber, Milz und dem Dünndarminhalt eines der gestorbenen Menschen züchtete van Ermengen in Reinkultur massenhaft Keime mit den Eigenschaften des *Bacillus enteritidis* Gärtners. Ferner wurden 2 Kälber mit dem gefundenen Bazillus injiziert; einige Personen, die irrtümlicherweise von dem Fleische aßen, erkrankten an Gastroenteritis.

Poels und Dhont fanden bei der Rotterdamer Fleischvergiftung 1892 im Fleische einer gewerblich geschlachteten und als tauglich dem Verkehr übergebenen Kuh unzählige Bakterien vom Typus des *Bacillus enteritidis*, die im Muskelgewebe zerstreut lagen, sich aber besonders zahlreich in den Gefäßen befanden. Durch intravenöse Impfung größerer Mengen der Bakterien konnten Rinder schon nach 14 Stunden getötet werden, wobei sich die Bakterien in allen Organen, im Blute und der Muskulatur nachweisen ließen. Impfungen von  $\frac{1}{3}$  ccm machten Rinder nur vorübergehend krank; auch wurde das Fleisch eines am Tage nach der Impfung geschlachteten Rindes ohne Nachteil vom Personal des Rotterdamer Schlachthofes genossen. Ein anderes Rind wurde 20 Minuten nach der Impfung einer geringen Kulturmenge getötet und das Fleisch zum Teil bei 20° C, zum Teil im Kühlhause aufbewahrt. Unmittelbar nach der Schlachtung waren die Bazillen in geringer Anzahl in der Milz, der Leber sowie in den Blutgefäßen nachzuweisen, während sie in den Muskeln außerhalb der Blutgefäße nicht aufzufinden waren. Dagegen zeigte sich ein 72 Stunden bei 20° C aufbewahrtes Fleischstück stark mit den verimpften Bazillen durchwachsen. Von dem im Kühlhause aufbewahrten Fleische aßen 53 Personen, von denen 15 unter Fleischvergiftungserscheinungen erkrankten.

Poels fand den gleichen Bazillus nochmals im Fleische eines Rindes, das an hämorrhagischer Enteritis gelitten hatte. Auch dieses Fleisch zeigte keine anormale Beschaffenheit, so daß dasselbe zum Konsum gelangte, dann aber gastroenteritische Erkrankungen bewirkte.

B. Fischer vermochte in 2 Fällen von Fleischvergiftungen den *Bacillus enteritidis* nachzuweisen.

Im Rumpfletter Falle züchtete er den *Bacillus enteritidis* aus dem Fleische einer 8 Tage lang puerperal erkrankt gewesenen und dann verendeten Kuh, deren Fleisch von 19 Personen in zubereitetem Zustande genossen worden war. Die Erkrankten genasen nach 2—4-tägiger Erkrankung sämtlich wieder. In dem Kuhfleische waren gleichartige Kurzstäbchen in großer Zahl vorhanden und durch das Kulturverfahren in Reinkultur nachweisbar. — Bei der Haustedter Epidemie stammte das Fleisch von einem notgeschlachteten Ochsen, der kurze Zeit an Durchfall und Schleimabgängen gelitten hatte, und bei der Beschau infolge des guten Aussehens des Fleisches als „genußtauglich“ begutachtet worden war. Aus dem Fleische des kranken Ochsen ließen sich mit Leichtigkeit neben *Proteus*-artigen Kolonien zahlreiche Kolonien des *Bacillus enteritidis* züchten.

Bei der Breslauer Vergiftung 1893 stammte das Fleisch von einer Kuh, die nach der Geburt an Enteritis erkrankt war und notgeschlachtete wurde. Das Fleisch

dieser Kuh wurde bei der Beschau infolge des Vorliegens von Enteritis und Hepatitis für „untauglich“ erklärt, späterhin gestohlen und verkauft. Das Fleisch selbst zeigte bei der Beschau keine Veränderungen und erwies sich auch zur Zeit der bakteriologischen Untersuchung noch von normaler Farbe, Geruch und Konsistenz. Im Fleische waren aber in großer Anzahl Stäbchen vorhanden, die beim kulturellen Verfahren in Form von Reinkulturen aufgingen und zur Paratyphusgruppe gehörten.

Weitere Befunde über Fleischvergiftungsbakterien bei Mensch und Tier wurden im Laboratorium van Ermengens zu Gent erhoben.

1898 züchtete de Nobèle aus dem Fleische und dem Knochenmark der Tibia eines wegen schwerer Enteritis in Aertryck notgeschlachteten Kalbes einen Bazillus der Paratyphusgruppe, der durch das Blutserum erkrankter Personen agglutiniert wurde. Obschon das in Frage stehende Fleisch bereits in einer Abortgrube gelegen hatte, so beweist doch der positive Agglutinationsausfall des Blutes des erkrankten Menschen auf die aus dem Fleisch und dem Marke der Tibia des notgeschlachteten Kalbes gezüchteten Keime, daß die gefundenen Keime als die Ursache der Fleischvergiftung anzusehen sind und auch die Krankheitserreger des Kalbes waren. 1899 fand van Ermengen bei einer Fleischvergiftung in Meierelbeck in dem sehr frischen Fleische, Blut und Knochenmark einer in der Agonie notgeschlachteten Kuh, die 8 Tage an puerperalen Affektionen erkrankt gewesen war, wie auch im Stuhlgang eines Kranken die gleichen Keime eines zur Paratyphusgruppe gehörigen Bakteriums. Das Blutserum von weiteren 5 Kranken agglutinierte den gefundenen Bazillus deutlich bis 1:200.

Fokker und Philipse fanden 1904 im Fleische eines notgeschlachteten Kalbes wie auch den Organen eines Kindes, das durch den Genuß des Fleisches dieses Kalbes gestorben war, die gleichen Bakterien vom Typus des *Bacillus paratyphi* B. Das rohe Fleisch des Kalbes war giftig für Mäuse, Meerschweinchen, Hunde und Katzen, gekochtes Fleisch und erhitzte Kulturen erwiesen sich dagegen als unschädlich.

Babes berichtete 1905 über eine Fleischvergiftung nach dem Genuß von Lammfleisch, das den *Bacillus enteritidis* enthielt. Nach Genuß desselben erkrankten 27 Personen schwer, von denen 3 starben. Aus den Organen der Verstorbenen wurde ebenfalls der *Bacillus enteritidis* gezüchtet.

Shibayama berichtet über folgenden interessanten Fall, dem geradezu der Wert eines nach dieser Richtung hin angestellten Experimentes zukommt, da hier der Verlauf der Epidemie vom Beginn der Infektion des Tieres bis zum Exitus letalis beim Menschen infolge des Fleischgenusses nachweisbar ist:

Von einem Pferde wurden infolge eines Versehens Mäusetyphusbazillen aufgenommen; das Tier ging nach 7 Tagen ein. Durch den Genuß des Fleisches des verendeten Pferdes erkrankten 34 Personen, von welchen eine starb. Im Pferdefleisch konnten die Mäusetyphusbazillen nachgewiesen werden.

Bei der Leipziger Fleischvergiftung im Mai 1905 erkrankten 200 Personen. 2 Knaben starben an infektiöser Enteritis. Das schädliche Fleisch stammte von einer Kuh, die im Anschluß an die Geburt krank geworden war und bei der nach der Schlachtung eine schleimig-eiterige Entzündung der Geschlechtsorgane festgestellt wurde. Das Fleisch der Kuh wurde bei der Fleischschau als bedingt tauglich erklärt, da Zeichen einer Blutvergiftung an den Organen und dem Fleische nicht vorhanden waren. Hoffmann isolierte aus dem Fleische den *Bacillus enteritidis*, der ein stark hitzebeständiges Toxin erzeugte.

Fainschmidt wies 1908 in Rindfleisch, nach dessen Genuß 8 Personen erkrankten und 2 starben, den *Bacillus enteritidis* nach.

Die Fleischvergiftung in Rätzlingen 1908 entstand nach Leistikow durch den Genuß des Fleisches einer notgeschlachteten Kuh. Von 21 erkrankten Personen starben 2. Die Kuh war 3 Tage krank und hatte nach den Angaben des Metzgers, an Magen-Darmentzündung gelitten. In dem rohen Kuhfleisch und der Milz einer gestorbenen Frau wurden die gleichen zur Paratyphusgruppe gehörigen Fleischvergiftungsbakterien nachgewiesen.

Auch bei der von Brummund beobachteten Epidemie dürfte eine Fleischvergiftung durch intravital infiziert gewesenes Fleisch vorgelegen haben, da sich hier im eingepökelten Fleische und frischen Hackfleisch eines alten Pferdes ebenso wie in den Faeces der Erkrankten zur Paratyphusgruppe gehörige Bakterien nachweisen ließen. Das Fleisch des Pferdes bot bei der Beschau keinen Grund zur Beanstandung und wurde daher als tauglich begutachtet. Die Untersuchung bei den übrigen Pferden des gleichen Stalles fiel negativ aus.

Hübener erwähnt in einer Zusammenstellung von Fleisch- und Nahrungsmittelvergiftungen weiterhin die beiden folgenden Fälle, bei welchen Fleischvergiftungsbak-

terien in Fleisch und Organen des in Frage kommenden Tieres wie auch beim Menschen gefunden wurden:

Der Genuß des Fleisches eines wegen Fiebers notgeschlachteten Stieres hatte im Regierungsbezirk Schleswig zahlreiche Erkrankungen und einen Todesfall im Gefolge. Sowohl im Fleische des Stieres wie auch in der Milz des gestorbenen Menschen wurde der *Bacillus enteritidis* nachgewiesen.

Bei einer Fleischvergiftung in Flandern mit einem Todesfalle fand Goebel im Fleische, Euter und in den Eingeweiden eines Pferdes wie auch in den Organen des Verstorbenen Bakterien vom Typus *Aertryk*.

Breckle berichtet über folgenden Fall: In Zazenhausen starb ein 11-jähriger Knabe unter den Erscheinungen der Fleischvergiftung. Derselbe hatte Tage zuvor Fleisch von einem notgeschlachteten Kalbe gegessen, das rapid abgemagert war und dessen Fleisch bei der Beschau zum Genuß im Hause freigegeben worden war. Sämtliche Personen, welche von dem Fleische genossen hatten, waren erkrankt. Ein gut erhaltenes Stück Fleisch des Kalbes zeigte bei der bakteriologischen Prüfung eine frische Farbe und keinen absonderlichen Geruch; ein vergraben gewesenes Fleischstück sah grau aus und roch übel. Aus den Fleischproben und den Organteilen der Leiche wurden die gleichen Bakterien gezüchtet, welche bei der Prüfung als *Bacillus enteritidis* Gärtner identifiziert wurden. Aus der Mitte des aufbewahrten Fleischstückes gingen auf Lackmus- und Fuchsinagarplatten die Kolonien in Reinkultur auf; die Platten von dem vergrabenen Fleische zeigten außerdem einige *Proteus*-Kolonien und sonstige Verunreinigungen. Ebenso zeigten die Platten aus den Organen der Leiche (*Vena cava superior*, Milz, Peyersche Plaques und Gekrösedrüsen) Reinkulturen von Gärtner-Bazillen.

Folgende von Pfeiler und Engelhardt bearbeitete Fleischvergiftung ist besonders lehrreich, weil hier neben den Menschen 3 Rinder, 9 Schweine und 1 Hund erkrankten. Der Tatbestand war folgender:

In Bobrau wurde am 19. Juli ein Jungrind geschlachtet, das an Aufblähung gelitten hatte. Nach dem Genuß des von einem Laienfleischbeschauer freigegebenen Fleisches erkrankten die Mitglieder von 3 Familien an Fleischvergiftung. Außerdem erkrankten 9 Schweine, die Blutwasser des notgeschlachteten Rindes aufgenommen hatten und 1 anderes Jungrind an unstillbarem Durchfall mit Fieber und Appetitmangel. 2 der Schweine und das Rind gingen am 22. Juli ein. Auch 1 kleiner Hund, der rohes Fleisch des notgeschlachteten Rindes gefressen hatte, ging ein. Weiterhin verendete am 22. Juli in einem anderen Gehöft ein Jungrind. In Fleisch und Organen der 3 verendeten Rinder, in den Milzen der beiden verendeten Schweine und in den Organen des verendeten Hundes wurden *Paratyphus B*-Bakterien nachgewiesen. Menschenverluste waren glücklicherweise nicht zu verzeichnen. Der Zusammenhang zwischen den erkrankten Menschen und Tieren steht aber außer Frage, da das Serum erkrankt gewesener Personen den gefundenen Bazillus in spezifischer Weise agglutinierte.

Ueber die Fleischvergiftungen von St. Johann und Kochel wird im folgenden Abschnitt eingehend berichtet.

Wenn somit die Zahl der Fälle, in denen die Fleischvergiftungsbakterien, außer beim Menschen, auch in Fleisch und Organen notgeschlachteter, krank gewesener Tiere nachgewiesen werden konnten, nicht sehr groß ist, so zeigen die vorstehenden Fälle doch offenkundig genug die Tatsache, daß tierpathogene Krankheitserreger, die der *Enteritidis*- und *Paratyphus*gruppe zuzurechnen sind, beim Menschen in Form der sogenannten Fleischvergiftung krankmachend wirken, sofern der Mensch das Fleisch dieser fleischbeschaulich nicht sicher erkennbar krank gewesenen Tiere genießt.

Schon Bollinger hat auf Grund der Epidemiologie der Fleischvergiftungen in der vorbakteriologischen Zeit den Zusammenhang dieser Massenerkrankung des Menschen mit Krankheitszuständen der Schlachttiere richtig erkannt und als „*Sepsis intestinalis*“-Krankheiten des Menschen bezeichnet, „beidenen das Gift vitalen und endogenen Ursprungs ist, mit anderen

Worten, bei denen das pathogene Fleisch von kranken Tieren abstammt“. Wenn Bollinger im Hinblick auf die Krankheitszustände der Tiere, die für die Erzeugung der Sepsis intestinalis in Betracht kamen, den weiteren Satz aufstellte, „daß wir bei den Fleischvergiftungen die Schädlichkeit vorzugsweise in jenen Tierkrankheiten zu suchen haben, die zur Gruppe der „pyämischen und septischen“ Erkrankungen gehören oder zum mindesten mit denselben verwandt sind“, so hatte dieser fleischbeschaulich ja heute noch anerkannte Satz für den Geist der damaligen Zeit zwar seine Berechtigung — für die Prophylaxe der Fleischvergiftungen aber hat sich diese der vorbakteriologischen Zeit entstammende Lehre als nicht brauchbar erwiesen und muß, wie ich einleitend schon darlegte, unbedingt verlassen werden; denn Bollinger — selbst ein Vorkämpfer für die Richtigkeit der sich damals langsam in ihren Anfängen durchsetzenden „Mikroben-theorie“ — konnte nicht voraussehen, daß den noch unbekannten Mikroben der Fleischvergiftung der bakteriologische Spezifitätscharakter zukam und daß die spezifischen Mikroben der Fleischvergiftung in ätiologischer Hinsicht nichts mit der sogenannten Pyämie und Septikämie zu tun hatte. Das, was die Fleischschau der Bollingerschen Lehre gemäß als Septikämie und Pyämie bezeichnet, sind in ätiologischer Hinsicht Krankheitszustände unspezifischer Natur, die, nachdem „Septikämie“ ein bakteriologischer Begriff für Krankheitszustände mit ätiologisch spezifischem Charakter geworden ist, mit dem sprachlich und begrifflich noch richtigen Wort der „Saprämie“ zu bezeichnen sind.

Die Fleischvergiftungen sind demnach zwar Septikämien — im modernen ätiologischen Sinne des Wortes geblieben; aber das, was Bollinger als Septikämie bezeichnete, steht zu den Krankheiten der Tiere, die die Fleischvergiftung beim Menschen erzeugen, in keiner ätiologischen Beziehung.

Der alte solidarpathologische Septikämiebegriff im Sinne Bollingers spielt aber fleischbeschaulich eine außergewöhnlich große Rolle und ist zum Nachteil der Fleischschau ein unklarer geblieben, weil der den tatsächlichen Befunden entsprechende Saprämiebegriff bislang nicht die ihm fleischbeschaulich gebührende Beachtung gefunden hat. Der die Bakteriologie fast ausschließlich beherrschende Spezifitätsgedanke führte dazu, daß die „Septikämie im Sinne Bollingers“ in der Fleischschau als auf „spezifischer“ Infektion beruhend angesehen wurde, bis ich darauf hinwies, daß wir es in diesen Fällen fast immer mit den Folgezuständen der nichtspezifischen Wundinfektion der „Saprämie“ zu tun haben, die ihrerseits nichts mit der Fleischvergiftung zu tun hat.

Bei dieser Sachlage tritt nun von neuem die Frage zur Beantwortung heran:

Welche Krankheiten der Haustiere geben zur Fleischvergiftung des Menschen Veranlassung?

In ätiologischer Hinsicht ist die Frage geklärt: es ist die Enteritis- und Paratyphuseptikämie der Schlachttiere.

In fleischbeschaulicher, d. h. prophylaktischer Hinsicht ist mit dieser Erkenntnis nicht viel gewonnen, da die Erkennung beider Septikämien auf Grund des klinischen und pathologisch-

anatomischen Befundes die größten Schwierigkeiten bietet.

Auch beim Menschen stößt die klinische Diagnose „Fleischvergiftung“ häufig auf Schwierigkeiten, wenn einzelne Glieder in der Kette der Beweisführung fehlen. Diese setzt sich zusammen aus dem Befund der Massenerkrankung, dem Hinweis der Patienten, daß der Genuß von Fleisch als ursächliches Moment in Frage kommen kann, den Mitteilungen der Patienten über die nur subjektiv wahrnehmbaren Beschwerden und dem klinischen Befund. Die Beweiskette schließt sich dann durch die Feststellung, daß alle erkrankten Personen Fleisch gegessen oder mit kranken Personen in direkter oder indirekter Berührung waren, daß das Fleisch von einem notgeschlachteten Tiere stammte und schließlich daß in den Ausscheidungen der erkrankten Personen und, sofern Fleisch des notgeschlachteten Tieres noch vorhanden ist, daß auch in diesem die gleichen Bakterien vom Typus des *Bacillus enteritidis* oder *paratyphi B* nachzuweisen sind.

Bereitet somit die Diagnose: alimentäre Infektion des Menschen mit vom Tiere stammenden Enteritis- oder Paratyphusbakterien = „Fleischvergiftung“ bis zur völligen Sicherung der Diagnose gewisse Schwierigkeiten, so ist die Stellung der entsprechenden intravitalen Diagnose für das Tier auf „Enteritis- bzw. Paratyphuseptikämie“ noch schwieriger. Hierin liegt aber die Gefahr für die Entstehungsmöglichkeit der Fleischvergiftungen beim Menschen.

Das einzelne Tier, das zum Ausgangspunkt einer Massenerkrankung für die das Fleisch des Tieres konsumierenden Menschen wird, läßt nur einen rein symptomatischen Befund über den Krankheitszustand aufnehmen, der nach den Erfahrungen, die bislang im Anschluß an Fleischvergiftungsepidemien gemacht werden konnten, nichts Charakteristisches bietet. Die hier in Frage stehenden Tiere wurden wegen ganz verschiedener Krankheitserscheinungen notgeschlachtet. Häufig bestanden die symptomatisch erkennbaren Krankheitszustände in Enteritis, Metritis, Mastitis, Polyarthrit, Omphalophlebitis; in anderen Fällen bestand der Krankheitszustand des Tieres in Peritonitis, Fremdkörperentzündung oder Abszeßbildungen, Harnblasenruptur, Petechialfieber, Verletzungen bei Schwergeburten und Wundinfektionen im Anschluß an Maul- und Klauenseuche.

Das Schlachtvieh zeigt also hinsichtlich der rein symptomatischen Krankheitserscheinungen eine große Mannigfaltigkeit gegenüber dem fleischinfizierten Menschen, der durch die Mitteilungen über seine subjektiven Beschwerden und die sonstigen Angaben den Verdacht des Arztes auf „Fleischvergiftung“ bzw. „Paratyphus“ lenkt. — Von den objektiv feststellbaren Erscheinungen sind Mensch und Tier nur zwei Symptome häufiger gemeinsam:

- 1) die gastro-enteritischen Erscheinungen in Form des Durchfalls und
- 2) die große Hinfälligkeit infolge der Erkrankung.

Letztere wird dann beim Tier die Veranlassung zur Notschlachtung. Andererseits sind gastro-enteritische Störungen so häufig zutage tretende Erscheinungen bei Tieren, daß diese Störungen allein nicht den Verdacht auf Enteritis- oder Paratyphusinfektionen wachrufen können. Für den Menschen gilt das gleiche. Gastro-enteritische Störungen können beim

Menschen in ätiologischer Hinsicht durch eine ganze Reihe spezifischer Infektionserreger bewirkt werden. Mit Rücksicht auf die Gemeingefährlichkeit einzelner dieser Krankheitserreger — insbesondere des Typhusbazillus — bedient sich die Humanmedizin in ausgedehnter Weise zur Sicherung der klinisch schwer stellbaren Diagnosen der bakteriologischen Prüfung der Ausscheidungen (Kot und Harn) und der bakteriologischen und serologischen Prüfung des Blutes der erkrankten Personen. In der Veterinärmedizin hat eine analoge Prüfung der Ausscheidungen und des Blutes von Tieren mit Verdauungsstörungen im allgemeinen noch keine Anwendung erlangt, obschon sie für die Klärung der Frage: „Welche Krankheiten der Haustiere geben zu der Fleischvergiftung des Menschen Veranlassung?“ von größter Bedeutung ist.

Der pathologisch-anatomische Befund bei Tieren, die getötet wurden, ohne daß die Enteritis- oder Paratyphuseptikämie klinisch erkannt werden konnte, bietet, wie ich im Gegensatz zu den fleischbeschaulichen Ansichten v. Ostertags hervorhebe, keinerlei für eine ätiologische Diagnose auf Enteritis- oder Paratyphuseptikämie brauchbare Merkmale an den Organen und dem Fleisch dieser Tiere.

Es ist nicht möglich, fleischhygienisch das Auftreten von Fleischvergiftungen dadurch zu verhüten, daß Schlachttiere mit Septikämie im ätiologisch ungeklärten Begriffe des Wortes vom Konsum durch den Menschen ferngehalten werden. Bei den Prüfungen, die ich hinsichtlich des Vorkommens von Fleischvergiftungsbakterien bei Notschlachtungen mit „septischem“ Beschaubefund angestellt habe, ergab sich, daß gerade in den Fällen, die bei dem Sachverständigen durch die Hochgradigkeit der Veränderungen das Gefühl der Gefährlichkeit solchen Fleisches für den Menschen wachriefen, Fleischvergiftungsbakterien nicht zu finden waren. Gerade in diesen Fällen fanden sich wider Erwarten keine spezifischen Fleischvergiftungsbakterien, sondern unspezifische „saprämische“ Bakterienarten. Demgegenüber wird immer wieder in den Fällen, in denen sich Fleischvergiftungen im Anschluß an fleischbeschaulich als zum Genuß für den Menschen tauglich begutachteten Fällen ereignen, von den Sachverständigen darauf hingewiesen, daß der pathologisch-anatomische Befund an den Organen und der Muskulatur keine Veranlassung bot, den Konsum des Fleisches den gesetzlichen Bestimmungen entsprechend zu verbieten.

Die Bollingersche Lehre führte zu der falschen Annahme, daß die Erreger der Fleischvergiftung starke Fleisch-, d. h. Eiweißgifte bilden und daß demgemäß das Fleisch und die Organe stark verändert aussehen müssen. Dieser sogenannte septische Beschaubefund sollte daher pathognostisch sein für Fleisch, das zu Fleischvergiftungen Veranlassung geben kann. Die Fleischvergiftungsbakterien zeigen aber ein gänzlich anderes Verhalten hinsichtlich der durch sie bewirkten pathologisch-anatomisch erkennbaren Veränderung der Organparenchyme und der Muskulatur, als dies bislang die Fleischschau der Bollingerschen Lehre gemäß annahm. Die Fleischvergiftungsbakterien bilden im Gegensatz zu den die Saprämie verursachenden unspezifischen Fäulnisbakterien — den Saprophyten — keine das lebende Eiweiß des Körpers schädigende Gifte. Auch die postmortale Infektion von Muskulatur mit Fleischvergiftungsbakterien bewirkt im Gegensatz zur Infektion mit Fäulnisbak-



terien, keine sinnfällige Veränderung der Muskulatur. Hieraus erklärt sich, weshalb gerade in den Fällen, die trotz fleischbeschaulicher Begutachtung zu Fleischvergiftungen führten, der Beschaubefund tatsächlich ein so günstiger war, daß keine die Fleischschau ungünstig beeinflussende Merkmale am Fleisch und den Organen wahrgenommen werden konnten. In diesen Fällen war immer, dem Charakter der symptomatisch gestellten Diagnose entsprechend, Darm, Uterus, Euter usw. offensichtlich verändert, während die übrigen Organparenchyme nur als „blutreicher“, nicht aber als schwer verändert angegeben wurden. Die von den Fleischvergiftungsbakterien gebildeten Gifte, insbesondere jene des *Bacillus enteritidis*, wirken, wie wir aus den Beschwerden erkrankter Menschen wissen, in erster Linie neuropathisch: schweres Kopfweg, heftige Leibschmerzen, Wadenkrämpfe, starke, lähmungsartige, anhaltende Mattigkeit. Eine ähnliche schwere neuropathisch sich geltend machende Giftwirkung der Fleischvergiftungsbakterien ist auch nach den spärlich vorliegenden Beobachtungen bei den erkrankt gewesenen Tieren zu erkennen. Hier führt ja die offensichtliche Bekundung schweren Krankseins durch das eingenommene Sensorium des Tieres zu dessen Notschlachtung. Es ist auch anzunehmen, daß die hier in Frage stehenden Infektionen der Tiere ähnlich wie beim Menschen nicht häufig zum natürlichen Tode führen, sondern in der Mehrzahl der Fälle wieder abklingen. Nach v. Ostertag betrug die Mortalität beim Menschen in 1745 Fällen der letzten 9 Jahre  $21 = 1,2$  Proz. Aber auch beim Menschen bietet die Sektion der an Fleischvergiftung gestorbenen Menschen kein pathognostisches Bild. Der Darm zeigt in der Regel die Erscheinungen einer mehr oder minder schweren Enteritis mit Schwellung der Schleimhaut und Hämorrhagien. Darmgeschwüre fehlen, und die lymphatischen Apparate sind nur selten schwer ergriffen. Das ähnliche Verhalten der Tiere in pathologisch-anatomischer Hinsicht kann demnach gar nicht befremden, zumal der sogenannte septische Beschaubefund sich als nicht pathognostisch für die Erkennung der notgeschlachteten Tiere erwiesen hat, die zu Fleischvergiftungen beim Menschen Veranlassung geben.

Auch die künstlichen Infektionsversuche, die mit Fleischvergiftungsbakterien bei schlachtbaren Haustieren angestellt worden sind, zeigen, daß die hierdurch bedingten Krankheitszustände weder klinisch noch pathologisch-anatomisch in diagnosesichernder Weise verwertet werden können.

Gärtner verfütterte gelegentlich der Frankenhauser Fleischvergiftung den *Bacillus enteritidis* an eine Ziege. Das Tier bekam starken Durchfall, wurde sehr krank, lag fast immer, erholte sich aber wieder. Nach einer weiteren starken Infektion ging das Tier nach 20 Stunden ein. Die Zerlegung ergab zahllose punkt- bis linsengroße Hämorrhagien in allen Organen, pneumonische Infiltration beider Lungen, starkes Lungenödem, serösen Erguß in die Pleurahöhle und sulziges Oedem an den Schenkelbeugen und in der Schultergegend.

van Ermengem infizierte mit dem *Bacillus enteritidis* von Moorseele 2 Kälber. Ein Kalb bekam 100 ccm Bouillonkultur, mit Milch vermischt, das andere 5 ccm Bouillonkultur subkutan. Beide Kälber zeigten stinkenden Durchfall mit Blutabgang, Fieber und allgemeine Niedergeschlagenheit. Nach der Schlachtung war lediglich eine Enteritis nachzuweisen.

Poels und Dhont verimpften den Rotterdamer Bazillus intravenös auf 2 Kühe, worauf dieselben Fieber, Freßunlust, Muskelzuckungen und Durchfall zeigten. Bei intravenöser Impfung größerer Mengen gingen Rinder nach 14 Stunden ein.

Basenau infizierte mit dem zur Paratyphusgruppe gehörigen *Bacillus morbi-ficans bovis* 1 Ziege und 3 Kälber. Die mit 4 ccm Bouillonkultur subkutan in-



fizierte Ziege erkrankte vorübergehend sehr schwer. Ein mit 2 ccm Bouillonkultur intraperitoneal infiziertes Kalb erkrankte sehr schwer, war nach 16 Tagen wieder munter und wurde 46 Tage nach der Impfung geschlachtet. Der Befund bestand lediglich in einem Abszeß zwischen Peritonealwand und Leber, in dem sich der geimpfte Bazillus sehr zahlreich nachweisen ließ. Das zweite Kalb wurde intramuskulär infiziert, erkrankte darauf heftig, erholte sich aber wieder vollständig und bekam dann 90 ccm Bouillonkultur intraperitoneal. 3 Tage nach dieser Infektion zeigte sich eine Störung des Allgemeinbefindens; das Tier lag viel, fraß nicht, zeigte Durchfall und verendete am 6. Tage nach der Impfung. Die Zerlegung ergab Blutungen in der Haut- und Unterhaut, sowie auf der Abdominalfläche des Zwerchfells und serofibrinöse Bauchfellentzündung, ausgebreitete lobuläre genuine Pneumonie und schwach graurote Verfärbung der Nierenrinde. Myokard, Leber, Milz und Muskulatur waren von normalem Aussehen. Das dritte Kalb erhielt 5 Tage lang infizierte Milch, erkrankte an Enteritis und starb nach 8 Tagen. Die Zerlegung ergab punktförmige Blutungen auf der sonst normalen Schleimhaut des Darmes sowie starke Vergrößerung und Schwellung der Mesenteriallymphknoten. Alle anderen Organe und die Muskulatur zeigten keine wahrnehmbaren Veränderungen.

Kutscher und Meinicke verfütterten Kulturen des Paratyphus B-Bazillus an 1 Pferd, 3 alte Ziegen, 1 Ziegenlamm, 2 Schafe, 2 Kälber und 4 Hunde.

Das Pferd erkrankte überhaupt nicht. Eine der älteren Ziegen zeigte nach Verabreichung großer Bakterienmengen eine vorübergehende Temperatursteigerung. Das gleiche war bei den beiden Schafen der Fall, deren Faeces zeitweise etwas breiig wurden, ohne daß aber von Durchfall gesprochen werden konnte. Die Schafe blieben auch munter und fraßen gut. Zwei Kälber bekamen nach Verabreichung infizierter Milch Durchfall, mit grünlich-gelbem, übelriechendem und mit fetzigen Schleimmassen durchsetztem Kot. Nach 13 und 14 Tagen erwiesen sich die Kälber auch fieberfrei und erholten sich wieder. Nur das Ziegenlamm, das stark infizierte Milch erhalten hatte, erkrankte in schwererer Form. Es zeigte Fieber, verminderte Freßlust und Schwäche und wurde nach 8-tägigem Kranksein getötet. Bei der Sektion waren nur einige geringfügige Petechien im oberen Dünndarm, sowie markige Schwellung einer Mesenterialdrüse auf Walnußgröße festzustellen. Sonstige pathologisch-anatomische Veränderungen waren nicht vorhanden.

F. M. Schmitt fand, daß Paratyphusbakterien in hohem Grade für Kälber virulent sind. Er fand Paratyphus- und Enteritisbakterien nicht nur bei ruhr-, sondern auch häufig bei lungenbrustfellkranken Kälbern in großer Zahl in allen Organen.

Ein 38 Tage altes Kalb erhielt 2 ccm Organauszug eines Kalbes, das einer durch Paratyphusbakterien bedingten Lungenbrustfellentzündung erlegen war, intrathorakal. Das Kalb erkrankte alsbald schwer und wurde 4 Tage nach der Infektion getötet. Blut und Organe des Kalbes erwiesen sich als mit Paratyphusbakterien überschwemmt. Weiterhin infizierte Schmitt ein 12 Tage altes Kalb subkutan mit Organauszug. Das Tier erkrankte sofort schwer und wurde nach 6 Tagen getötet. — Einem 19 Tage alten Kalbe wurden 250 ccm des Auszuges in die Nase gesprüht. Auch dieses Tier erkrankte alsbald schwer und wurde nach 13 Tagen getötet. Wie bei dem ersten Kalbe waren auch bei diesen beiden Kälbern alle Organe und das Blut mit Paratyphusbakterien überschwemmt. Die Kälber zeigten Erkrankung des Lungenbrustfells.

Schmitt hat dann weiterhin die Befunde von Kutscher und Meinicke nachgeprüft und fand, daß vom Menschen stammende Paratyphusbakterien für Kälber bei subkutaner, intrathorakaler und aërogener Infektion pathogen sind. Dagegen war bei Intektion von Darm aus keine pathogene Wirkung nachweisbar.

Bei Infektionsversuchen von Dammann und Stedefeder erwiesen sich „echte“ Paratyphus B- und Enteritisbakterien für Schweine nicht pathogen im Gegensatz zum *Bacillus suipestifer* Voldagsen.

Nach Fütterungsversuchen, die v. Ostertag bei Ferkeln anstellte, erwiesen sich Paratyphus B-Bazillen des Menschen als unschädlich, wohingegen die Ferkel nach Fütterung vom Schweine stammender Paratyphus B-Bazillen krank wurden.

Uhlenhuth erzielte bei Schweinen durch Verimpfung von menschenpathogenen Paratyphus B-Bazillen leichte, in Freßunlust und Fieber bestehende Krankheitserscheinungen; in einem Fall fand er schwere Darmveränderungen. Die Verfütterung von 500 ccm Bouillonkultur von Paratyphus B-Bazillen, die aus verendeten Kälbern gewonnen waren, ließ ein Rind an Darmentzündung mit Fieber und Kräfteverfall vorübergehend erkranken. Die erneute Verfütterung von 3 Liter Bouillonkultur 4 Wochen später an das gleiche Rind vermochte keine Krankheitserscheinungen auszulösen.

Langkau verfütterte an ein 8 Monate altes Kalb ein Gemisch von je 100 ccm Kälberruhr-Gärtner-Bazillen, menschlicher Paratyphus B- und Schweinepestbazillen,

wodurch keine Störung des Allgemeinbefindens bewirkt wurde. Auch die subkutane Einverleibung von 10 ccm Bouillonkultur der gleichen Bakterien bewirkte nur vorübergehend leichtes Fieber und große Hinfälligkeit.

Titze und Weichel fütterten ein 4½ Wochen altes Kalb mit Kälberruhr-Gärtner-Bazillen. Dasselbe erkrankte an heftigem Durchfall, zeigte Fieber und große Hinfälligkeit und ging nach 8 Tagen ein. Die Sektion ergab entzündliche Rötung und Schwellung der Schleimhaut des Magendarmkanals mit stecknadelkopf- bis hirsekorngroßen Blutungen und leichter Schwellung der Mesenterialdrüsen; unter dem Epikard und Endokard vereinzelte kleine Petechien; in der Lunge ein 5-markstückgroßer atelektatischer Herd. Milz, Leber und Nieren waren unverändert. — Die Verfütterung von 50 ccm einer 48 stündigen Paratyphus B-Bouillonkultur vermochte bei einem 20-tägigen Kalb keine Krankheitserscheinungen zu bewirken. Als das Kalb 8 Tage später 200 ccm Milchkultur des gleichen Stammes verfüttert erhielt, erkrankte das Kalb an Durchfall. Die Sektion des am 15. Tage geschlachteten Kalbes ergab nur leichte Rötung und Schwellung des Dünndarmes und eine weißgraue Verfärbung der linken Leberhälfte. Der übrige Befund war negativ. — Ein Inhalationsversuch mit der gleichen Kultur bei einem gleichaltrigen Kalb konnte keine Gesundheitsschädigung bewirken.

Zwick und Weichel infizierten mit einem aus einer Mastitis acuta der Kuh stammenden Paratyphusstamm 3 Ziegen galaktogen mit 1 und 5 ccm 24-stündiger Bouillonkultur und einer Nadelspitze von einer 4 Wochen alten Gelatinekultur. Alle 3 Ziegen erkrankten an heftiger, mit Fieber und Störung des Allgemeinbefindens verbundener Euterentzündung. 2 Ziegen verendeten, während sich das 3. schwach infizierte Tier wieder erholte. — Mit dem gleichen Stamme infizierte Fauß 2 Ziegen galaktogen, die ebenfalls schwer erkrankten und nach 14 und 27 Tagen eingingen.

Reinhardt und Seibold infizierten zur Bestimmung der klinischen Symptome und der pathologisch-anatomischen Veränderungen 5 Ziegen mit Gärtner-Bazillen und 8 Ziegen mit Paratyphusbazillen. Die genannten Autoren stimmen auf Grund der hierbei gemachten Beobachtungen der von mir vertretenen Auffassung bei, daß die Septikämien der Schlachttiere, die zu Fleischvergiftungen Veranlassung geben können, in der Regel keinen Beschaubefund bieten, der die Erkennung dieser Infektionen ohne bakteriologische Untersuchung ermöglicht. Reinhardt und Seibold sagen: „Bestimmte klinische Symptome, die auf eine Enteritisinfektion schließen ließen, sind nicht wahrgenommen worden. . . . Für die Infektion mit Enteritisbakterien fehlten also besondere pathologisch-anatomische Veränderungen, wenn man nicht die hämorrhagische Darm-entzündung als solche auffassen will. Typische Veränderungen der Blutvergiftung, wie erhebliche Milzschwellung, parenchymatöse Trübung der Leber, Nieren, des Herzmuskels, sowie Schwellung und blutig-wässrige Durchtränkung sämtlicher Lymphdrüsen waren bei den Versuchstieren nicht vorhanden. Die Befunde stimmen hiernach mit den bisherigen Erfahrungen überein, daß die zu Fleischvergiftungen Veranlassung gebenden Septikämien keinen so auffälligen Beschaubefund darbieten, daß die Erkennung der Infektion ohne bakteriologische Untersuchung sich ermöglichte.“ — Ueber die mit Paratyphus B-Bazillen angestellten Impfversuche sagen die gleichen Autoren:

„Besondere klinische Symptome, die für eine Paratyphusinfektion sprächen, konnten nicht wahrgenommen werden. . . . Ein für die Paratyphusinfektion spezifischer Beschaubefund war somit bei den Ziegen nicht nachweisbar, im Gegenteil wurden bei der Beschau mitunter so wenig Veränderungen angetroffen, daß nicht einmal das Vorliegen einer Septikämie festgestellt werden konnte. Die Paratyphusinfektion konnte einzig und allein durch die bakteriologische Untersuchung und den Nachweis der spezifischen Agglutinine im Blutserum mit Sicherheit erkannt werden.“

Aus alledem folgt, daß die klinische und pathologisch-anatomische Diagnose der Enteritis- und Paratyphus-septikämie der Schlachttiere sehr schwer in zuverlässiger Weise zu stellen ist. Diese Schwierigkeiten in der Diagnosestellung lassen sich mit Bezug auf die Notwendigkeit der Verwertung notgeschlachteter Tiere zum Zwecke der Ernährung für den Menschen in fleischbeschaulicher Hinsicht aber doch beheben. Mit Bezug auf den Menschen soll die Fleischschau das Fleisch notgeschlachteter Tiere ja nur dann zum Konsum freigeben, sofern die

Unschädlichkeit des Fleisches feststeht. Die Feststellung des Nichtvorhandenseins der Enteritis- und Paratyphusseptikämie bei notgeschlachteten Tieren ist aber leicht auf dem Wege der bakteriologischen Fleischbeschau zu ermöglichen. Demgemäß ist die Ausführung der bakteriologischen Fleischuntersuchung in den Fällen notwendig, die für das Vorliegen einer Enteritis- und Paratyphusseptikämie bei den Schlachttieren in Frage kommen. Welche Fälle hierbei besonders in Frage kommen, soll später besprochen werden.

Weiterhin ergibt sich die Notwendigkeit, die Enteritis- und Paratyphusseptikämie von veterinärmedizinischen Gesichtspunkten besser als bisher kennen zu lernen. Den Ausgangspunkt hierzu bildeten für mich die Fleischvergiftungen von St. Johann und Kochel. Ich habe in früheren Mitteilungen bereits mehrfach Bezug auf die Fleischvergiftung von St. Johann genommen, ohne über diese Fleischvergiftung eingehend vom veterinär-medizinischen Standpunkte aus zu berichten. In epidemiologischer Hinsicht hat Rimpau über diese Fleischvergiftung bald nach deren Beobachtung berichtet. In hygienischer Hinsicht war zunächst zu zeigen, daß Bollinger zu weit gegangen war, wenn er sagte, „daß die pyämischen und septischen Erkrankungen unserer Schlachttiere alle Charaktere gemeingefährlicher Erkrankungen in sich tragen und demgemäß vom sanitätspolizeilichen und prophylaktischen Standpunkte eine durchaus andere Auffassung verdienen, als ihnen bisher zum Schaden der menschlichen Gesundheit zuteil wurde“.

Diesen Satz, der einen der Grundpfeiler der Fleischbeschau bildete und der die klare Erkenntnis der Beziehungen der Fleischvergiftung des Menschen zu bestimmten Krankheiten der Schlachttiere so lange verzögert hat, weil er zu Unrecht als bewiesen und richtig angesehen wurde, habe ich dahin eingeschränkt, daß die pyämischen und septischen Erkrankungen der Haustiere im Sinne Bollingers in ätiologischer Hinsicht fast immer Saprämien sind, denen kein gemeingefährlicher Charakter für den Menschen zukommt. Gemeingefährlich für den Menschen im Sinne Bollingers, d. h. in Form der Fleischvergiftung, sind nur die klinisch und pathologisch-anatomisch nicht sicher erkennbaren Enteritis- und Paratyphusseptikämien der Schlachttiere. Diese können vom sanitätspolizeilichen und prophylaktischen Standpunkte aus dadurch vom menschlichen Konsum ferngehalten werden, daß die Inverkehrgabe des Fleisches notgeschlachteter Tiere von dem negativen Ausfall der bakteriologischen Prüfung abhängig gemacht wird. Zu dieser bakteriologischen Prüfung notgeschlachteter Tiere liegt — mit Worten v. Ostertags gesprochen — Veranlassung vor, „wenn das Fehlen gröberer Läsionen an den inneren Organen oder die Geringfügigkeit der Veränderungen zu den schweren Veränderungen während des Lebens anscheinend in gar keinem Verhältnis steht“.

### III.

Bei der Fleischvergiftung von St. Johann war folgender Sachverhalt gegeben:

Am 26. Juli 1909 wurde mir von dem Kreistierarzt L. in Z. Zunge und Halsmuskulatur eines am 17. Juli in St. Johann bei Zabern notgeschlachteten Ochsen zur bakteriologischen Untersuchung übersandt. Nach dem Genuß des Fleisches des Ochsen sollte in St. Johann eine größere Anzahl von Personen erkrankt sein. Das zur Untersuchung übersandte Fleisch war in saurem Wein eingelegt gewesen. Die kulturelle Prüfung ergab auf der Fuchsinagarplatte das Aufgehen zahlreicher verdächtiger Kolonien, die im hängenden Tropfen von Gärtner-Serum stark agglutiniert wurden und die im Kochsalztropfen als Einzel- und Doppelstäbchen sehr lebhaft und charakteristische windmühlenflügelartige Bewegungen zeigten. Daneben wurden lange Ketten mit schlangenartiger Bewegung beobachtet. Im Agglutinationsversuch agglutinierte Gärtner-Serum die Bakterien bis zur Titergrenze 1:20 000. Ein gleichartiger Befund war von der bakteriologischen Anstalt in Hagenau gemacht worden. Die Diagnose wurde demgemäß von beiden Stellen auf Fleischvergiftung durch *Bacillus enteritidis* Gärtner gestellt.

Der Kreistierarzt L. in Z. machte über den Verlauf der Krankheit des Ochsen und den Befund bei der Fleischschau folgende Mitteilungen:

„Der Landwirt G. aus St. Johann bei Zabern ließ mich am 16. Juli nachmittags zu seinem 2-jährigen erkrankten Ochsen rufen. Als ich 1 Stunde nachher an Ort und Stelle kam, teilte mir G. in Gegenwart seines Schwagers, des Fleischbeschauers J., mit, daß fraglicher Ochse ungefähr seit 8 Uhr früh des nämlichen Tages sich krank zeige. Nachdem er gefüttert und getränkt worden war, habe er plötzlich Kolikerscheinungen und Harnbeschwerden gezeigt. Er fing an, unruhig zu werden, mit den Hinterfüßen hin und her zu treten, auf die Erde zu stampfen, den Schwanz öfter zu heben, mit demselben häufige kurze Seitwärtsbewegungen zu machen, sich hinzulegen, um alsbald wieder aufzustehen und mit den Hinterfüßen gegen den Leib zu schlagen. Am Tage vorher (15. Juli) war er anscheinend noch ganz gesund; er wurde zum Heuholen angespannt und habe gut gearbeitet; allerdings sei er 14 Tage vorher auf eine ähnliche Art und Weise, jedoch nicht so heftig, erkrankt gewesen; er hatte sich jedoch damals bald wieder fast ohne jede Behandlung völlig erholt, nachdem er habe urinieren können. Von da ab bis zum 16. Juli schien bei ihm alles völlig in Ordnung zu sein. Ich fand das Tier, einen starken, gut genährten Zugochsen der Simmentaler Kreuzung, im Stalle ruhig liegend; ein Antrieb stand er nur widerwillig auf; ich ließ ihn in die Scheune führen; er ging langsam, vorsichtig, war etwas traurig, matt und teilnahmslos. Der Bauchumfang war normal, die Bauchmuskulatur aber fester, gespannter, die Flanken leicht gleichmäßig aufgetrieben; beim Streichen mit den Fingern über die Harnröhre, ihrem Verlaufe folgend, äußerte er Unruhe und Schmerz; Futter und Getränk verschmähte er; von Zeit zu Zeit zeigte er Schüttelfröste und allgemeines Muskelzittern; die Harnausscheidung war seit dem Tage vorher ganz unterdrückt.

Auf Grund dieses Krankheitsbildes gab ich den Rat, den Ochsen nicht zu behandeln, ihn vielmehr sofort schlachten zu lassen, da meiner Ansicht nach seine Harnblase zerrissen sei; der Riß sei herbeigeführt dadurch, daß ein Harnstein von der Blase aus in die Harnröhre geraten, dort stecken geblieben sei und diese verstopft habe; infolge dessen sei die Harnblase geborsten, wodurch der Harn sich in die Bauchhöhle ergieße; eine Genesung des Ochsen sei, wie gesagt, ausgeschlossen; je eher man ihn schlachte, je vorteilhafter sei es für den Besitzer.

Da der im Orte ansässige Metzger gerade auswärts war, mußte die Schlachtung verschoben werden. Ich wollte die Fleischschau jedenfalls am nächsten Vormittag, den 17. Juli, vornehmen; in der Frühe erschien der Besitzer bei mir, um mir zu sagen, daß der Metzger den Ochsen nicht schlachten wolle, überhaupt sagen alle, welche das Tier sahen, es sei schade darum, es scheine besser zu sein, man solle abwarten; inzwischen habe man es mit „etwas“ Salpetersalz, Leinsamenwasser und Kamillentee traktiert. Nach Hause zurückgekehrt, beriet sich jedoch der Besitzer nochmals mit seinem Schwager, dem Fleischbeschauer, und holte daraufhin den Metzger herbei. Um 11 Uhr vormittags am 17. Juli war der Ochse geschlachtet. Ich nahm die Fleischschau etwa 2—3 Stunden nachher vor. Die Krankheitsdauer hatte etwa 27 Stunden betragen. Ich fand meine Diagnose vollauf bestätigt: es hatte sich ein erbsengroßer, herzförmiger Harnstein in der Harnröhre festgeklemmt und die

oben angegebenen Folgen gehabt. Weitere krankhafte Veränderungen waren nicht vorhanden, außer einem leichten, kaum wahrnehmbaren Harngeruch der Bauchdeckenmuskulatur; das Bauchfell zeigte eine leichte rötliche Verfärbung, sonst keinerlei Veränderung, insbesondere waren keine Auflagerungen oder anderweitige Entzündungserscheinungen vorhanden. Das Muskelfleisch war normal: es sah, wie es bei jungen, gut genährten Ochsen stets der Fall zu sein pflegt, sehr schön rosarot aus und war mit festem, kernigem weißen Fett durchsetzt, welches besonders in der Lenden- und Nierengegend stark entwickelt war. Herz, Leber, Nieren und Milz waren ein wenig blutreicher, im übrigen jedoch nicht verändert. In Anbetracht des sehr geringen, kaum wahrnehmbaren Harngeruchs eines Teiles der Muskulatur, des guten Aussehens und der guten Qualität des Fleisches mußte ich die Vorschriften § 40 Ziffer 3 Abs. 2 der Ausführungsbestimmungen des Bundesrates vom 30. Mai 1902 befolgen und das Fleisch für „minderwertig“ erklären.

Es blieb bis zum 18. Juli nachmittags 3 Uhr in der Scheune des Besitzers hängen, dann wurde es dort durch den Metzger ausgehauen.

Ich selbst, ferner der Bürgermeister, der Besitzer und der Fleischbeschauer und ihre Angehörigen und zahlreiche Einwohner von St. Johann haben von dem Fleische gegessen, ohne die geringsten Beschwerden zu verspüren.“

Das Fleisch des Ochsen war nach den Ermittlungen der bakteriologischen Anstalt in Hagenau in 101 Häuser mit 490 Bewohnern gekommen. Trotzdem das Fleisch angeblich nur in gekochtem und gebratenem Zustande verzehrt worden war, wurden 97 Erkrankungen in 41 Häusern mit 217 Insassen festgestellt.

Weitere Erkrankungen unter den Tieren des Dorfes wurden nach meinen Ermittlungen nicht beobachtet; insbesondere zeigten die beiden weiteren Tiere in dem Stalle des Landwirtes G. keinerlei Krankheitserscheinungen. Es war mir daher von Interesse, ob nicht durch serologische Untersuchungen Anhaltspunkte gewonnen werden konnten, die auf Infektionen der Tiere des Dorfes mit Gärtner-Bazillen schließen ließen.

Die diesbezügliche Prüfung erstreckte sich zunächst auf die weiteren Tiere des Stalles A, in dem der notgeschlachtete Ochse stand. — In dem kleinen, schlecht eingerichteten und wenig sauberen Stalle standen eine Kalbin und eine Kuh. Der Serumtiter des Blutes der Kalbin auf den Gärtner-Stamm betrug 1:60, derjenige der Kuh 1:200. Im Urin und Kot beider Tiere, in der Milch der Kuh, in der Jauche des Stalles, der Düngergrube und der Straßenrinne sowie in dem Wasser zweier Brunnentröge der Nähe waren bei zweckentsprechender Untersuchung keine Gärtner-Bazillen nachweisbar.

Am 2. August entnahm ich abermals bei den Tieren des Stalles A, sowie bei Tieren aus Ställen der Nachbarschaft Blutproben. Die Entnahme von Blutproben bei einer größeren Zahl von Tieren in St. Johann stieß auf Schwierigkeiten, weil die Leute infolge des ergangenen Milch- und Obstverkaufsverbotes weitere seuchenpolizeiliche Auflagen argwöhnten und die Erlaubnis zur Blutentnahme bei den Tieren nur ungern gestatteten.

Die Prüfung der am 2. August entnommenen Blutproben hinsichtlich ihres Agglutinationsvermögens auf den aus dem Fleische des notgeschlachteten Ochsen gezüchteten *Bacillus enteritidis* hatte folgendes Ergebnis:

Tabelle I.

No. der Tiere	Stall	Alter und Geschlecht	Agglutinations-titer des Blutserums	Bemerkungen
1	A	Kalbin	1:80	} Stallung des notgeschlachteten, infiziert gewesenen Ochsen
2	"	Kuh	1:200	
3	B	"	1:60	
4	"	"	1:2000	
5	"	Kalb	1:400	Hat 3 Tage zuvor gekalbt Seit 14 Tagen im Stall C; von aus- wärts eingeführt
6	C	Kalbin	1:60	
7	"	Kuh	1:200	
8	"	"	1:4000	
9	D	Jungrind	1:30	

Da irgendwelche Untersuchungen über die Agglutinationskraft des normalen Blutserums von Rindern (Ochsen, Stiere, Kühe) und Kälbern bei Ausführung dieser Untersuchungen nicht vorlagen, so war das Ergebnis infolge der außerordentlichen Verschiedenheit in der Höhe der Titer der Blutproben sehr überraschend. Besonders auffallend waren die Bluttiters der Kuh No. 4, des Kalbes No. 5 in Stall B und der Kuh No. 8 in Stall C. Irgendwelche Krankheitserscheinungen waren bei keinem der vorstehenden Tiere beobachtet worden. Auch hatte die Prüfung der Blutkoagula in Galle bei allen Tieren ein negatives Ergebnis hinsichtlich des Vorhandenseins von Enteritisbakterien. — Da beim Menschen die Gruber-Widalsche Reaktion auf Typhus bei einem Bluttiters von 1:100 bereits als positiv für das Vorliegen von Typhus angesehen wird, mußten zur richtigen Deutung der Befunde zunächst weitere Untersuchungen über das Agglutinationsvermögen des Blutes gesunder einwandfreier Rinder auf Bakterien der Enteritis- und Paratyphusgruppe ausgeführt werden.

Diesbezügliche Untersuchungen, welche ich mit Blutproben von Rindern des Straßburger Schlachthofes ausführte und die von Zahn auf die ganze Typhaceengruppe ausgedehnt wurden, ergaben, daß das Blut von einwandfreien Ochsen, Stieren und Kühen einen normalen Agglutinationstiter von 1:100—1:200, also durchschnittlich von 1:150 hatte, während das Blut von Kälbern einen Titer von 1:30—1:70, also im Durchschnitt einen Titer von 1:50 zeigte.

Hiernach ergab sich, daß die hohen Bluttiters der beiden Kühe No. 4 und 8 und des Kalbes No. 5 nur erklärbar sind, wenn dieselben als der Ausdruck abgelaufener Enteritisinfektionen aufgefaßt werden. Eine erst kürzlich erfolgte Infektion der Kuh No. 8 erschien um so eher möglich, als das Tier erst seit 14 Tagen in St. Johann war. Die hohen Bluttiters der 3 Tiere als den Ausdruck einer abgelaufenen Infektion mit Enteritisbakterien aufzufassen, erscheint mir auch um so berechtigter, als nach den epidemiologischen Beobachtungen Rimpaus in St. Johann eine Erhöhung des Bluttiters bei den infizierten Menschen in den meisten Fällen erst nach klinischer Genesung und nicht vor der zweiten Woche nach erfolgter Infektion zu beobachten war.

An die Beobachtung der hohen Bluttiters der Tiere 4, 5 und 8 knüpft sich naturgemäß die Frage, weshalb diese Tiere nicht ebenso wie der

notgeschlachtete Ochse klinisch schwer erkrankt sind, bzw. aus welchem Grund die Infektion bei dem Ochsen eine so folgenschwere war.

Rimpau gab seiner Ansicht dahin Ausdruck, die St. Johanner Epidemie lehre, daß auch Erkrankungen anderer Art als jene, welche der Bollingerschen These gemäß fleischbeschaulich als für die Verursachung von Fleischvergiftungen in Betracht kommend erachtet werden — im vorliegenden Falle „Blasenruptur infolge Blasensteines“ — die Ursache einer Vergiftungsepidemie sein können, und daß das Fleisch der artiger Notschlachtungen als suspekt zu betrachten sei.

Ich vermag dieser Auffassung Rimpaus nicht beizupflichten, so sehr dieselbe vielleicht auf Grund des Berichtes des Kreistierarztes L. berechtigt erscheinen vermag. Die Bildung von Harnröhrensteinen beim Ochsen und die länger andauernde Ansammlung von Urin in der Bauchhöhle infolge einer Blasenruptur hat an und für sich mit der Entstehung von Fleischvergiftungen gar nichts zu tun, um auf Grund eines solchen Befundes das Fleisch als suspekt erklären zu können. Seit meiner Tätigkeit in München habe ich Gelegenheit gehabt, das Fleisch und die Organe von 8 Ochsen, welche infolge der Harnverhaltung durch Harnröhrensteine (Blasenruptur und Harninfiltrationen am Schlauch)<sup>1)</sup> geschlachtet wurden, zu untersuchen, und in keinem Fall den von Rimpau ausgesprochenen Verdacht bestätigt gefunden. Trotzdem hat im St. Johanner Fall das zufällige Zusammentreffen der Harnblasenruptur mit der vorhanden gewesenen Infektion des Ochsen den Ausschlag für die folgenschwere Infektion des Fleisches und der Organe des Ochsen gegeben. Ich komme auf die Frage weiter unten bei Besprechung der tiefer greifenden Wirkung der Wundinfektion im Gegensatz zur natürlich alimentär verlaufenden Infektion virulenzgeschwächter Bakterienstämme zurück.

Oberflächlich betrachtet, erscheint zwar im vorliegenden Fall die Harnblasenruptur als der eigentliche Grund der Notschlachtung. Die Harnblasenruptur war aber nicht die Krankheitsursache, sondern meiner Ansicht nach nur eine Komplikation der schon gegebenen Erkrankung, die in einer Enteritisinfektion bestand. Da der Ochse noch tags zuvor geharnt hatte, konnte die Harnblasenruptur nicht die die Fleischvergiftung bedingende Krankheitsursache sein, zumal der Ochse schon vor 14 Tagen in ähnlicher Weise erkrankt war. Die große Hinfälligkeit des Ochsen war vor der eingetretenen Blasenruptur schon vorhanden und ist demnach als neuropathische Wirkung der Enteritisinfektion anzusehen. Die Blasenruptur hat aber den Ablauf dieser Infektion ungünstig beeinflusst und konnte auch in fleischbeschaulicher Hinsicht die Krankheitserscheinungen des Ochsen in lebendem Zustande derartig erklären, daß kein Grund vorlag, hier irgendwelchen Verdacht dafür zu schöpfen, daß der Genuß des Fleisches schädliche Folgen für den Menschen in Form der Fleischvergiftung haben könne.

1) Die Harnröhrensteine beim Ochsen sind in der Veterinärpraxis keine seltene Erscheinung. Das Entstehen der Harnröhrensteine beim Ochsen hat folgende Bewandnis: Der Schlauch des männlichen Rindes macht hinter dem Hodensack in der Regio perinei eine von vorn nach hinten verkehrt S-förmig verlaufende Krümmung, die im erigierten Zustande verschwindet. Da beim Ochsen infolge der Kastration eine Streckung der Flexura sigmoidea nicht mehr in genügender Weise erfolgt und der Harn der Rinder meist mit Salzen übersättigt ist, so bilden sich häufig in der Flexura sigmoidea Konkreme, die schließlich den Abfluß des Harnes ganz verhindern können und dann zur Blasenruptur führen.

Die serologische Untersuchung weiterer Tiere der Ortschaft zeigte dann ja auch, wie sich aus Tabelle I—II ergibt, daß Kuh 4 und Kalb 5 aus Stall B sowie Kuh 8 aus Stall C ebenfalls von einer Enteritisinfektion befallen gewesen sein müssen, daß aber hier die Infektion ohne schwere Folgen für die Tiere ablief, da die Infektion vermutlich rein alimentär-enteral erfolgte, wohingegen das Moment der den Ablauf der Infektion schwerer gestaltenden parenteralen Wundinfektion fehlte. Die Enteritisinfektion wäre bei dem notgeschlachteten Ochsen vermutlich ebenso wie bei den Tieren der Ställe B und C ohne besondere Folgen abgelaufen, wenn nicht die Komplikation der Harnblasenruptur zufällig hinzugetreten wäre. Durch diese parenterale Superinfektion wurde die Infektion des Ochsen jedenfalls tiefgreifender gestaltet.

Daß der parenterale, mit der Wundinfektion zusammenlaufende Eintritt der Enteritis- und Paratyphusbakterien hinsichtlich der Entstehung von Fleischvergiftungen ganz entschieden eine Rolle spielt, ist aus der Tatsache zu erkennen, daß in allen Fällen mit bekannt gewordener symptomatischer Krankheitsdiagnose fast immer die parenterale Infektionsmöglichkeit von Wundflächen aus gegeben war. Gewöhnlich handelt es sich nicht, wie im St. Johanner Fall, um Wundflächen, die nur mit dem spezifischen Infektionserreger in Berührung kommen, sondern um Wundflächen, die daneben auch eine saprämische Infektion im Gefolge haben. Deshalb beobachten wir Fleischvergiftungen bzw. die Enteritis- und Paratyphusseptikämie der Schlachttiere im Anschluß an Metritis, Mastitis, Omphalophlebitis, an Fremdkörperentzündungen, Verletzungen bei Geburten, Wunden im Anschluß von Maul- und Klauen-seuche usw.

Es ist also nicht die „jauchige Blutvergiftung“, wie sie sich anschließt an eitrige oder brandige Wunden, Entzündungen des Euters, der Gebärmutter, der Gelenke, der Sehnenscheiden, der Klauen und Hufe, des Nabels, der Lungen, des Brust- und Bauchfells und des Darmes, welche Veranlassung zu Fleischvergiftungen geben kann, sondern die Fleischvergiftungen treten in Erscheinung, wenn bei den obengenannten Zuständen virulent gewordene Bakterien der Fleischvergiftungsgruppe zufällig Gelegenheit haben, von Wundflächen aus den Körper besonders tiefgreifend zu infizieren. Bleibt diese zufällige Infektion mit Bakterien der Fleischvergiftungsgruppe aus, so entsteht eine Infektion durch die ubiquitären Fäulnisbakterien — die „Saprämie“ in ihren verschiedenen Formen.

Biologisch läßt sich die primäre Infektion des Ochsen auf Anfang Juli zurückdatieren. Wie ich bereits in meinen Ausführungen über „Fleischvergiftung und Nahrungsmittelvergiftung in ihrer Beziehung zur intravitalen und postmortalen Infektion des Fleisches der Schlachttiere“ dargelegt habe, hatte der Auszug der Muskulatur des notgeschlachteten Ochsen einen Agglutinationstiter von 1:80. Aus den in der obigen Arbeit mitgeteilten Untersuchungen geht hervor, daß bei entbluteten Tieren, deren Muskelauszug einen bestimmten Agglutiningehalt aufzuweisen hat, ein 50- bis 100mal höherer Bluttiter anzunehmen ist, und umgekehrt. Hiernach ergibt sich für den notgeschlachteten Ochsen ein Serumtiter von 1:4000—1:8000, wobei noch in Betracht zu ziehen ist, daß der Muskel vom 2. Tage



nach der Schlachtung ab eine ziemlich starke Verminderung seines Gehaltes an Agglutininen zeigt, so daß der Titer des Blutserums des Ochsen mit 1:4000—1:8000 nicht zu hoch gegriffen sein kann. Da ferner die vermehrte Bildung von Agglutininen eine nur dem lebenden Eiweiß zukommende Fähigkeit ist, die, wie bereits weiter oben erwähnt wurde, bei Gärtner-Infektionen nicht vor der zweiten Woche nach erfolgter Infektion einsetzt, so muß in Anbetracht der Höhe des aus dem Muskelagglutiningehalt berechneten Agglutinin-gehaltes des Blutserums der Beginn der Infektion mit Enteritiskakterien bei dem Ochsen wenigstens auf einen 14 Tage vor dem Schlachten liegenden Zeitpunkt — also auf Anfang Juli zurückdatiert werden.

Daß der hohe Bluttitel der Kuh und des Kalbes in Stall B und der Kuh in Stall C auf eine vorausgegangene Infektion durch Enteritiskakterien zurückzuführen war, konnte ich durch weitere Untersuchungen des Blutes dieser und anderer Tiere beweisen. Die Prüfung von am 27. August entnommenen Blutproben ergab folgende Werte:

Tabelle II.

No. der Tiere	Stall	Alter und Geschlecht	Titer des Blutserums	Bemerkungen
4	B	Kuh	1:800	Titer am 2. Aug. 1:2000
5	B	Kalb	1:150	" " 2. " 1:400
8	C	Kuh	1:1500	" " 2. " 1:4000
10	D	"	1:80	altmelkend
11	D	"	1:100	frischmelkend
12	E	"	1:200	hochträchtig
13	E	"	1:150	"
14	F	"	1:100	—
15	F	"	1:80	—
16	F	Ochs	1:100	—
17	G	Kuh	1:40	frischmelkend
18	G	"	1:100	—

Aus der Tabelle ist somit ersichtlich, daß die Titer der Sera, mit Ausnahme jener der Kuh und des Kalbes aus Stall B und der Kuh aus Stall C, normalen Werte haben. Die Titer der 3 Tiere aus Stall B und C sind am 27. August gegenüber den Werten vom 2. August um mehr als die Hälfte gefallen, halten sich jedoch immer noch auf einer die Norm wesentlich übersteigenden Höhe. — Das Blut der Kuh 4 aus Stall B und der Kuh 8 aus Stall C habe ich am 9. November 1909 und 1. August 1910 ein 3. und 4. Mal mit folgendem, aus der Tabelle III ersichtlichen Ergebnis geprüft:

Tabelle III.

Zeitpunkt der Prüfung	Titer des Blutserums der Kuh	
	No. 4 in Stall B	No. 8 in Stall C
2. Aug. 1909	1:2000	1:4000
27. " 1909	1:800	1:1500
9. Nov. 1909	1:100	1:150
1. Aug. 1910	1:125	1:150

Somit hatten die beiden Kühe aus Stall B und C bei der 3. Prüfung — 3 Monate nach der 1. — bereits wieder einen normalen Serومتiter, der sich auch ein Jahr später auf der gleichen normalen Höhe bewegte. Ebenso ergab nach Tabelle IV die erneute Blutprüfung weiterer Tiere von St. Johann, insbesondere der neuen Insassen des Stalles A am 1. August 1910 keine Werte, die auf eine Infektion der Tiere hätten schließen lassen können. — Die beiden Tiere No. 1 und 2 von Stall A (Tabelle I), in dem der infiziert gewesene Ochse gestanden hat, sind nach 6 und 11 Monaten an Händler zum Schlachten verkauft worden.

Tabelle IV.

No. der Tiere	Stall	Alter und Geschlecht	Titer des Blutserums	Bemerkungen
19	A	Kuh	1:80	seit 6 Monaten in Stall A
20	A	„	1:60	seit 14 Tagen in Stall A
21	A	Jungrind	1:50	4 Monate alt; Kalb von Kuh 19
4	B	Kuh	1:125	Titer am 2. Aug. 1909 1:2000
22	B	„	1:60	seit 6 Monaten in Stall B
8	C	„	1:150	Titer am 2. Aug. 1909 1:4000
23	C	„	1:60	seit 6 Monaten im Stall
24	H	„	1:100	—
25	H	Ochs	1:80	—

Auch hatte ich Gelegenheit, am 27. August 1909 und am 17. August 1910 Fleisch und Organe zweier in St. Johann notgeschlachteter Kühe zu untersuchen. Ueber das Ergebnis der Untersuchung der beiden Tiere hinsichtlich der Zulassung des Fleisches zum Konsum ist folgendes zu berichten:

Fall I. 27. August 1909.

5-jährige Kuh des Landwirtes X. in St. Johann.

Lebendbeschau: Die Kuh hatte 4 Tage zuvor einen Abortus, an den sich eine Endometritis anschloß. Bei der Besichtigung ist die Kuh apathisch, steht mit gekrümmtem Rücken da und preßt in kurzen Intervallen auf den Uterus, wobei aus der Scheide geringe Mengen einer jauchig-stinkenden Flüssigkeit fließen. Mastdarmtemperatur beträgt 38,9° C; der Puls ist klein und in der Minutenzahl erhöht; daneben besteht Appetitmangel und fehlende Ruminations. — Es wird Schlachtung angeraten und eine Blutprobe zur Untersuchung entnommen. Die Schlachtung erfolgte am 28. August vormittags.

Die Fleischbeschau am 28. Aug. mittags ergab folgendes:

Jauchige Endometritis ohne makroskopisch erkennbare Entzündungserscheinungen an den übrigen Organen der Bauch- und Brusthöhle. Das Muskelfleisch ist von gutem Aussehen, trocken und vollkommen ausgeblutet. Die Zulassung des Fleisches zum Konsum wird mit Rücksicht auf die verhängnisvollen Folgen der vorhergehenden Notschlachtung von einer bakteriologischen Untersuchung des Fleisches und der Organe abhängig gemacht.

Die am 28. Aug. nachmittags vollzogene bakteriologische, serologische, biologische und tierexperimentelle Prüfung der Muskulatur, des Blutes und der Organe hat folgendes Ergebnis:

Reaktion des Muskels am 28. Aug. schwach, am 29. Aug. deutlich sauer.

Keimgehalt des Fleisches auf Fuchsinagar: negativ

„ des Herzmuskels „ „ „

„ der Milz „ „ „

„ der Leber „ „ zahlreiche Coli-Kolonien,

vermischt mit spärlichen unverdächtigen Kolonien

des Uterussekretes auf Fuchsinagar: zahlreiche unverdächtige

„ Kolonien

Die erneute Prüfung der Muskulatur nach 24- und 48-stündiger Lagerung ergibt ebenfalls das Freisein derselben von verdächtigen Bakterien.

Der Agglutinationstiter des Blutserums auf Enteritisbakterien beträgt 1:150, derjenige des Muskelauszuges ist in Konzentrationen von 1:2 und 1:4 partiell positiv, in den Konzentrationen von 1:10—1:100 negativ.

Die biologische Prüfung des Muskels bei 37° auf seine Haltbarkeit ergibt nach 14-stündigem Verweilen bei Brutwärme eine graurote Verfärbung der Oberfläche, keine Geruchs-anomalie und keine Plasmolyse.

Der Fütterungsversuch rohen und gekochten Fleisches an weiße Mäuse eines unverseuchten Bestandes läßt bei 6-tägiger Beobachtung der Tiere keine enteral wirkende Schädlichkeit in der Muskulatur des notgeschlachteten Tieres feststellen.

Prüfungsergebnis: Saprämische Endometritis.

Fleischbeschauliche Beurteilung auf Grund des Prüfungsergebnisses: Gemäß § 40 der Ausführungsbestimmungen zum Reichsfleischbeschau-gesetz als tauglich, jedoch minderwertig zum Konsum zugelassen. Ausgepfundet wurde das Fleisch ohne Nachteil für die Konsumenten verzehrt.

#### Fall II. 17. August 1910.

Notschlachtung einer 6-jährigen Kuh des Landwirtes Y. in St. Johann.

Lebendbeschau: Die Kuh hat vor 4 Tagen gekalbt. Nichtabgang der Nachgeburt; Appetitlosigkeit und große Hinfälligkeit. Schlachtung erfolgt am 17. Aug. vormittags 6 Uhr.

Die am 17. Aug. nachmittags 3 Uhr vorgenommene Fleischbeschau ergibt folgendes:

Das Fleisch und die Organe der geschlachteten Kuh sind dunkler gefärbt als normal und mangelhaft ausgeblutet. In den Lungen interstitielles Lungenemphysem; in der Gebärmutter mehrere Liter einer jauchig-stinkenden Flüssigkeit.

Die Zulassung des Fleisches zum Konsum für den Menschen wird von dem Ergebnis der bakteriologischen Prüfung abhängig gemacht. Zur Untersuchung werden übermittelt:

Muskulatur aus der inneren Seite des rechten Hinterschenkels am Beckenboden; Herzmuskulatur, Milz, Leber, Niere und zwei Darmbeinlymphknoten.

Die Prüfung der eingesandten Materialien hatte folgendes Ergebnis:

Reaktion der Muskulatur: deutlich sauer.

Keimgehalt der Muskulatur auf Fuchsinagar: negativ.

„ des Herzmuskels	„	„	} unverdächtige Kolonien, darunter zahlreiche Coli- Arten
„ der Milz	„	„	
„ der Leber	„	„	
„ der Niere	„	„	
„ der Darmbein- lymphknoten	„	„	

Die Muskulatur zeigt bei der Lagerung das spontane Austreten einer geringen Menge keimfreien Muskelplasmas.

Der Fütterungsversuch rohen Fleisches an weiße Mäuse eines unverseuchten Bestandes läßt bei 6-tägiger Beobachtung keine enteral wirkende Schädlichkeit in der Muskulatur feststellen.

Prüfungsergebnis: Beginnende saprämische Intoxikation infolge Retentio secundinarum.

Fleischbeschauliche Beurteilung auf Grund des Prüfungsergebnisses: Das Fleisch wird gemäß § 40 der Ausführungsbestimmungen zum Reichsfleischbeschau-gesetz als tauglich, jedoch minderwertig zum Konsum zugelassen. Ausgepfundet, wird das Fleisch ohne Nachteil verzehrt.

In den beiden vorgenannten Fällen war der Beschaubefund unter Berücksichtigung der die Notschlachtung augenscheinlich bedingenden Krankheitszustände der Bollingerschen These gemäß entschieden ungünstiger als bei dem augenscheinlich wegen Blasenruptur notgeschlachteten Ochsen. Trotzdem hätten beide Tiere auch mangels einer bakteriologischen Untersuchung ohne schädigende Folgen für den Menschen zur Konsumtion gelangen können,

weil eben in beiden Fällen „Sapramien“ vorlagen, die aber nicht als „jauchige Blutvergiftungen“ im Sinne der Ausführungsbestimmungen des Reichsgesetzes vom 3. Juni 1900 aufzufassen waren, obschon auf Grund des Beschaubefundes der Begutachter eine solche Diagnose hätte konstruieren können und wahrscheinlich konstruiert hätte, wenn demselben nicht die Gelegenheit zur exakten Prüfung der beiden Fälle zur Verfügung gestanden hätte. Die Kunst der Fleischschau darf eben nicht darin bestehen, alles „verdächtige“ Fleisch aus Angst vor vielleicht möglichen Folgen zu beanstanden, sondern sie muß darin bestehen, den Verdacht in zweifelhaften Fällen durch geeignete Untersuchungsmethoden als begründet oder unbegründet zu entscheiden.

Bei der Fleischvergiftung von Kochel lag folgender Tatbestand vor:

Am 29. Mai 1914 hatte eine 5-jährige Kuh des Landwirtes S. in Kochel ein lebendes, ausgetragenes Kalb geboren. Entzündungszustände der Geschlechtsorgane traten infolge des ordnungsgemäßen Abganges der Nachgeburt nicht ein; dagegen zeigte die Kuh zunehmenden Durchfall, so daß am 3. Juni tierärztliche Hilfe in Anspruch genommen wurde. Distriktstierarzt H. in P., der konsultiert wurde, ließ mir über den Fall folgende Mitteilungen zugehen:

„Fragliche Kuh wurde von mir am 3. Juni 1914 untersucht. Befund: Temperatur 40,8° C; Puls 64 (klein und schwach fühlbar); Atmung 36 (kostal); Flotzmaul trocken; Augen tiefliegend matt; Ohren, Hörner und Extremitäten kalt (wechselnd); Pansen leicht aufgetrieben, Inhalt teigig fühlbar; Druck auf Bauchdecken leicht schmerzhaft (Stöhnen); Peristaltik des Pansens vollständig unterdrückt; Darmgeräusche zeitweise hörbar; Appetit gering; Milchsekretion unterdrückt. (Das Tier soll bereits ungefähr 8 Tage krank sein.) Arm bei Exploration mit leicht rötlich-brauner, flüssig-schleimiger Masse überzogen, profuse Diarrhöe.

Diagnose: Gastroenteritis.

Therapie: Im Trinkwasser kleine Gaben Sal. therm., schleimige Abkochungen mit Bolus alba; Frottieren und Bedecken des Körpers; Diät.

Am 4. Juni Zustand des Tieres wie tags zuvor. Am 5. Juni hat sich der Zustand etwas verschlimmert; da die Prognose ungünstig war, wurde die Schlachtung am gleichen Tage angeraten. Was vor dem 3. Juni und nach dem 5. Juni mit dem Patienten geschah, ist mir unbekannt, da ich nur innerhalb dieser 3 Tage das Tier untersuchte.“

Die Kuh wurde am 6. Juni geschlachtet und zur Beschau bei dem zuständigen Bezirkstierarzt St. in T. angemeldet. Am 7. Juni wurde die Fleischschau von dem Assistenten des Bezirkstierarztes ausgeübt, der das Fleisch der Kuh als „minderwertig“ begutachtete und folgenden Bericht über den Beschaubefund machte, nachdem eine größere Anzahl von Personen infolge des Genusses des Fleisches der Kuh erkrankt war:

„Am 7. Juni d. J. nachmittags um 2 Uhr nahm ich in Kochel die Fleischschau an einer dem Herrn Sch. gehörigen Kuh vor. Wie mir der Besitzer erklärte, war das Tier schon seit einigen Tagen krank gewesen und war deshalb in Behandlung des Distriktstierarztes H. in P. gestanden, der auch den Rat zur Schlachtung gab.

Ich übte die Fleischschau in der Weise aus, daß ich zuerst die 4 Viertel einer äußeren wie inneren Besichtigung unterzog. Der Nährzustand des Tieres war ein allgemein guter zu nennen, das Tier war gut ausgeblutet, das Fett war weiß und die Oberfläche des ganzen Tierkörpers trocken. An Bauch- und Brustfell waren keinerlei Veränderungen wahrzunehmen.

Hierauf untersuchte ich die einzelnen Organe (Kopf und Zunge, die Lungen und das Herz, das Zwerchfell, die Leber, die Milz, die Nieren, den Magen und Darmkanal, das Euter und die Gebärmutter). Am linken Lungenflügel konstatierte ich lediglich eine übermäßige Blutfülle, welche ich als Senkungshyperämie auffaßte. Bei Besichti-

gung des Darmkanales fiel mir auf, daß die Darmserosa des Dünndarmes stellenweise rosarot verfärbt war, im übrigen aber glatt und glänzend erschien. Ich stellte daher Darmentzündung fest. Lunge und sämtliche Gedärme ließ ich entfernen. Alle anderen Organe mit den dazu gehörigen Lymphdrüsen, insbesondere die Leber, ließen in bezug auf Farbe, Glanz, Blutgehalt der Schnittflächen und Konsistenz keine pathologischen Veränderungen erkennen. Speziell richtete ich meine Aufmerksamkeit darauf, ob keine septikämischen oder pyämischen Erscheinungen im Anschluß an die Darmentzündung vorhanden wären. Nachdem hierfür nicht die geringsten Anhaltspunkte vorlagen, erklärte ich das Fleisch nach § 40, 6 der Ausführungsbestimmungen als für den menschlichen Genuß tauglich, aber in seinem Nahrungs- und Genußwert erheblich herabgesetzt und versah vorschriftsmäßig die einzelnen Fleischteile mit dem Minderwertigkeitsstempel. Der Grund der Minderwertigkeitserklärung war die im Leben vorausgegangene mehr oder minder lange Krankheit und außerdem der Umstand, daß das Tier medikamentös behandelt wurde.

Die am 13. Juni mit Unterstützung der bakteriologischen Untersuchungsanstalt in München eingeleiteten amtsärztlichen Recherchen ergaben als Krankheitsursache bei den erkrankten Personen auf Grund der Untersuchung des Stuhles und Blutes Paratyphus. Von dem beschuldigten Fleische der notgeschlachteten Kuh war fast nichts mehr vorhanden. Aus einem stark in Fäulnis übergegangenen Muskelstück der Kuh konnten keine Paratyphusbazillen gezüchtet werden.

Nachdem die Kocheler Epidemie am 15. Juni zu meiner Kenntnis gelangt war, suchte ich Material zur enzootiologischen Klärung der Frage zu erlangen. Insbesondere erschien es mir angezeigt, durch Blutuntersuchungen der übrigen Tiere des gleichen Stalles festzustellen, ob, wie in St. Johann, weitere Infektionen serologisch festzustellen seien. Bei der am 17. Juni erfolgten Entnahme von Blutproben bei den übrigen Tieren des Stalles in Kochel ergab sich folgendes:

Der Stall des Landwirtes S. in Kochel war abzüglich der notgeschlachteten Kuh und des von der Kuh stammenden Kalbes mit 11 Tieren (6 Milchkühen, 1 Stier, 2 Jungstieren, 1 Jungrind und 1 Kalb) besetzt. Der moderne und hygienisch gut eingerichtete Stall war, wie das ganze Gehöft, sauber gehalten. Die Stallpflege der Tiere war eine gute. Irgendwelche weiteren Erkrankungen waren vorher und nachher bei diesen Tieren nicht aufgetreten. Das von der notgeschlachteten Kuh stammende Kalb war am 13. Juni geschlachtet worden. Einer Beschau wurde dasselbe, weil zum Hausgebrauch bestimmt, nicht unterworfen. Nach den Angaben des Besitzers sei das Kalb infolge des Abganges der Mutter nicht recht gediehen und sei außerdem von einem nebenstehenden Tier „getreten“ worden. Der Metzger habe bei der Schlachtung nichts Krankheitsverdächtiges gefunden, und das Kalb sei bis auf einen Ueberrest in der Familie verzehrt worden. Das letzte Fleisch des Kalbes sollte am 17. Juni, dem Tage meiner Anwesenheit, mittags verzehrt werden. Zu diesem Zwecke wurde dasselbe gerade in der Küche unter der Wasserleitung „gewässert“, weil dasselbe nach der Ansicht der Bäuerin nicht mehr „ganz frisch“ war. Bei der Besichtigung des Fleisches war ohne weiteres zu erkennen, daß das Kalbfleisch oberflächlich in stinkender Zersetzung begriffen war. Die Farbe war schmutzig-graurot, und außerdem war das Muskelfleisch mit Blutungen durchsetzt. Bei der Zerteilung des Fleisches zeigte sich, daß erbsen- bis walnußgroße Hämorrhagien vorhanden waren, und daß auch unter der Knochenhaut des Femur flächenhafte Blutungen vorhanden waren. Von dem weiteren Genuß des für

den Sachverständigen offensichtlich von einem schwer krank gewesenen Kalbe stammenden Fleisches wurde auf mein Anraten hin Abstand genommen und ein Teil der Hinterschenkelmuskulatur sowie der Femur zu Untersuchungszwecken entnommen. — Von dem Fleische der notgeschlachteten Kuh waren im Haushalte des S. nur noch zerkleinerte Teile des gekochten und inzwischen faulig gewordenen Flotzmaules vorhanden, die als Hühnerfutter Verwendung fanden. Aus einem Hause der Nachbarschaft wurde mir jedoch noch ein ca. 2 Pfd. schweres, vom Hinterschenkel der Kuh stammendes Muskelstück überbracht, das mit Salz, Salpeter und Wacholder eingesäuert worden war. Das Fleisch war von gutem Aussehen, oberflächlich etwas schmierig und hatte einen eigentümlichen, leicht fischigen Geruch. Auf dem Durchschnitt war das Fleisch trocken und von schön dunkelroter Fleischfarbe; in vereinzelten kleinen Muskelvenen war noch schwarzrotes, dickes Blut vorhanden.

Die Untersuchung der Muskulatur der Kuh und des Kalbes mittels Fuchsinagars und Anreicherung in Galle und Bouillon ergab folgendes:

Die Muskulatur der Kuh erwies sich im Innern auf den meisten Platten und in den meisten Anreicherungen als keimfrei, während die Oberfläche von zahlreichen Saprophyten übersät war. Dagegen konnten aus dem Blutinhalte einer kleinen Muskelvene Paratyphus B-Kolonien gezüchtet werden.

Von 12 aus den blutigen und nichtblutigen Teilen des Kalbfleisches angefertigten Platten waren in 3 Platten vereinzelte Paratyphuskolonien nachweisbar; in den übrigen Platten eine mehr oder minder große Zahl unverdächtigter Kolonien. — In den aus dem Knochenmarke des Femur angefertigten Platten gingen in allen Platten Paratyphuskolonien fast in Reinkultur in größerer Menge auf.

Es war somit der Beweis erbracht, daß sowohl die notgeschlachtete Kuh als auch das von derselben stammende Kalb an Krankheitszuständen gelitten hatten, die durch Paratyphus B-Bazillen verursacht waren, und daß der Genuß des Fleisches der notgeschlachteten Kuh eine größere Anzahl von Personen in Form einer Paratyphusinfektion gesundheitlich geschädigt hatte.

Im vorliegenden Falle konnte bei der notgeschlachteten Kuh das Vorliegen einer Paratyphusinfektion weder auf Grund des klinischen Befundes noch des Ergebnisses der Fleischschau von dem Sachverständigen erkannt werden.

Die Prüfung der entnommenen Blutproben der übrigen Rinder des Stalles hatte folgendes Ergebnis (s. Tabelle V, S. 442).

Die Agglutinationsprüfung ergab somit, daß von den übrigen Stalltieren kein Tier als infiziert ermittelt werden konnte, und daß nur die Kühe No. 3 und 7 eine leichte Erhöhung des Bluttiters über die Norm zeigten. Der Befund ist um so bemerkenswerter, als sämtliche Tiere einschließlich der notgeschlachteten Kuh ständig in dem mit Tränke versehenen Stall gehalten worden waren und nicht auf die Weide gekommen sind. Die In-

Tabelle V.

No. der Tiere	Alter und Geschlecht	Titer des Blutserums	Bemerkungen
1	Stier, 14 Monate alt	1:100	} Zwischen Kuh 3 und Kalb 4 stand die notgeschlachtete Kuh
2	Kuh, 3 Jahre „	1:150	
3	„ 4 „ „	1:400	
4	Kalb, 7 Wochen „	1:30	
5	Kuh, 3 Jahre „	1:200	
6	„ 5 „ „	1:150	
7	„ 3 „ „	1:400	
8	„ 8 „ „	1:150	
9	Stier, 3 $\frac{1}{2}$ „ „	1:250	
10	„ 6 Monate „	1:100	
11	Rind, 5 „ „	1:70	

fektion der notgeschlachteten Kuh muß also im Stall erfolgt sein. Für alle Tiere bestand daher eine Infektionsgefahr, die infolge der schweren Erkrankung der notgeschlachteten Kuh für die übrigen Tiere noch in erheblichem Maße zunahm, da die Möglichkeit einer Kontaktinfektion durch die infizierten Exkremente der erkrankten Kuh bei den Verhältnissen eines Kuhstalles für alle Tiere gegeben war. Mit Ausnahme des von der notgeschlachteten Kuh stammenden Kalbes erkrankte jedoch kein weiteres Tier. In dem Stalle mußten also bei der erkrankt gewesenen Kuh unbedingt prädisponierende Momente gegeben gewesen sein, welche die für alle Tiere in gleicher Weise vorhanden gewesene Infektionsmöglichkeit nur bei dem einen Tiere katastrophal werden ließ. Die Kuh hatte am 29. Mai gekalbt, kam am 3. Juni wegen Enteritis in tierärztliche Behandlung, soll damals bereits ungefähr 8 Tage krank gewesen sein und wurde am 6. Juni notgeschlacht. Zunächst lag jedenfalls in der Hochträchtigkeit der Kuh ein die Widerstandsfähigkeit des Organismus schwächendes Moment gegenüber Infektionen, das mit der erfolgten Geburt noch vergrößert wurde. War bereits vor dem Eintreten der Geburt eine enterale Paratyphusinfektion vorhanden, so war mit dem Einsetzen der Geburt bei den Verhältnissen eines Kuhstalles auch weiterhin noch die Möglichkeit der parenteralen Superinfektion vom Geburtswege und insbesondere von den Wundflächen der Cotyledonen aus gegeben. Hierzu braucht man sich bloß die Kapillarattraktion längs der Fruchthäute vom Stallboden aus bei dem Tiere vor Augen zu halten. Das Nichteinsetzen metritischer Erscheinungen wäre durch das Einsetzen einer spezifischen Infektion erklärlich. Von der Kuh wurde ferner zweifelsohne der wenig widerstandsfähige Organismus des Kalbes post partum infiziert, da das Kalb anfangs gesund und munter war und bei einer Infektion ante partum eine Notschlachtung bzw. ein spontanes Eingehen des Tieres sicherlich vor 16 Tagen erfolgt wäre.

Eine Enteritis die fleischbeschaulich Erscheinungen der „jauchigen Blutvergiftung“ bewirkt hatte, lag im vorliegenden Falle also nicht vor; vielmehr war die pathologisch-anatomisch nur sehr schwach zum Ausdruck



kommende Enteritis, bewirkt durch eine „spezifische“ Infektion, die fleischbeschaulich gar nicht als solche erkannt werden konnte.

Einen bemerkenswerten Befund ergab weiterhin im Kocheler Fall die Prüfung der Muskulatur der notgeschlachteten Kuh und des Kalbes in bezug auf den Agglutiningehalt. Während im Fall St. Johann aus dem Titer des Muskelauszuges von 1:80 auf einen Titer des Blutes von 1:4000—1:8000 und einen ca. 14 Tage zurückliegenden Infektionsbeginn geschlossen werden konnte, waren im Fall Kochel in den Preßsäften aus der Muskulatur der Kuh und des Kalbes irgendwelche Agglutinine nicht nachzuweisen. Die hieraus durch Rückschluß zulässige Annahme, daß der Infektionsbeginn zeitlich nicht weit zurückliegend sein kann, stimmt mit den vorhergehenden Angaben überein. Die am 6. Juni notgeschlachtete Kuh kam am 3. Juni erstmals in tierärztliche Behandlung und sollte damals nach den Mitteilungen des behandelnden Tierarztes vermutungsweise an 8 Tage krank sein. Für das 16 Tage alt gewordene Kalb dürfte aus dem Mangel an Agglutininen im Muskelpreßsaft ebenfalls die schon weiter oben ausgedrückte Vermutung sich bestätigen, daß die Infektion des Kalbes erst einige Tage nach der Geburt erfolgt ist. Der Mangel an Agglutininen in der Muskulatur beider Tiere steht fernerhin auch noch mit dem bakteriologischen Befund in einem gewissen Einklang, als bei der Kuh nur im Blut einer größeren Muskelvene, nicht aber im Muskelgewebe selbst Paratyphusbakterien festzustellen waren, und als auch der Gehalt des Muskelgewebes beim Kalb an Paratyphusbakterien nur ein geringer war, während derselbe bei der Muskulatur des St. Johanner Ochsen ein sehr starker war.

Die Prüfung der Sammelmilch bei den Kühen des Kocheler Stalles ergab am 17. Juni das Freisein der Milch von Paratyphusbakterien. Dagegen konnten durch die Prüfung der Sammelmilch vom 19. Juni zahlreiche Paratyphusbakterien in dem Milchgemenge festgestellt werden. Die Infektion der Milch vom 19. Juni ist aller Wahrscheinlichkeit nach erst nach dem Melken durch Verunreinigung der Euter, der Melkhände oder der Milchgeschirre entstanden. Die gemachte Beobachtung zeigt aber, wie dringend notwendig bei Fleischvergiftungsepidemien auch eine scharfe Milchkontrolle ist, da durch den Weitertransport derartig infizierter Milch nach benachbarten Ortschaften der Fleischvergiftung gleichwertige Infektionen beim Menschen bewirkt werden können. — Eine derartige, aller Wahrscheinlichkeit nach durch Milch bedingte Kontaktinfektion konnte im St. Johanner Fall durch Rimpau festgestellt werden.

In einem zwischen St. Johann und Zabern liegenden Dorfe Monsweiler erkrankte am 23. Juli 1909 eine Frau unter den Erscheinungen der Fleischvergiftung. Die Frau bezog ihre Milch aus einem Gehöfte von St. Johann, in dem das Milchmädchen und weitere 4 Personen erkrankt waren. Das Milchmädchen hatte noch am 28. Juli Enteritiseime im Stuhl. Die Frau in Monsweiler hatte 2 Tage vor ihrer Erkrankung rohe Milch getrunken, ihrer Familie aber nur abgekochte gegeben. In dem von der Frau in Monsweiler bewohnten Gehöft standen, einer anderen Partei gehörig, 2 frischmelkende Kühe und ein Kalb. Die Milch der beiden Kühe enthielt nach meinen Untersuchungen vom 28. Juli keine Enteritiseime; der Blutserumtiter beider Kühe war 1:40 und 1:100, der des Kalbes 1:20. Alle diese



Befunde lassen somit als Ursache bei der Erkrankung der Frau nur eine Kontaktinfektion durch infizierte Milch aus St. Johann annehmen.

Die Erkrankung des Menschen an „Fleischvergiftung“ setzt sich aus zwei krankmachenden Komponenten zusammen, nämlich einer infizierenden, durch Bakterien bedingten und einer vergiftenden, durch thermostabile Gifte bedingten. Die Schwere der Erkrankung ist abhängig von der Menge des konsumierten Fleisches, der Art und Weise der Zubereitung des Fleisches, dem Grad der Infektion des Fleisches und der Menge der hierbei gebildeten Gifte. Hinsichtlich der Giftwirkung des konsumierten Fleisches infizierter Schlachttiere auf den Menschen zeigen die bisher beobachteten Epidemien große Schwankungen; doch läßt sich im allgemeinen sagen, daß die Intoxikationskomponente bei den Gärtner-Infektionen größer als bei den Paratyphusinfektionen zu sein pflegt. Da die chemische Konstitution der hier in Betracht kommenden neuropathisch wirkenden Gifte unbekannt ist und wir nur die Giftwirkung aus den gelegentlich von Epidemien angestellten Fütterungsversuchen kennen, suchten Forster und Basenau die im Tierversuch nachweisbare Giftwirkung bei der prophylaktischen Fleischuntersuchung zu verwerten und empfahlen daher bei der bakteriologischen Fleischschau die Fütterung des rohen und gekochten zu untersuchenden Fleisches an je zwei weiße Mäuse. Auf diese Weise sollte das etwaige Vorhandensein thermostabiler Gifte nachweisbar werden. Die Brauchbarkeit des Mäusefütterungsversuches ist in den letzten Jahren mehrfach zu Unrecht in Zweifel gezogen worden. Die Ausschaltung des Mäusefütterungsversuches bei der prophylaktischen und retrospektiven Fleischuntersuchung würde bedingen, daß unsere Kenntnis über die Anwesenheit von Bakteriengiften in Fleisch von Tieren, welche mit Gärtner- und Paratyphusbakterien infiziert waren, nicht erweitert werden könnte. Die Erweiterung unserer Kenntnis hierüber ist aber für den Ausbau der prophylaktischen Fleischuntersuchung um so wichtiger, als bei den Schlachtieren in einzelnen Organen (Leber des Kalbes, Mesenteriallymphknoten der Schweine) häufiger Bakterien der Fleischvergiftungsgruppe angetroffen worden, ohne daß das Fleisch und die Organe dieser Tiere toxigene Eigenschaften besitzen, und ohne daß das Fleisch dieser Tiere in Form der Fleischvergiftung infizierend zu wirken vermag. Wie ich in einer besonderen Arbeit über den Wert und Zweck des Mäusefütterungsversuches und die Art und Weise der Ausführung desselben dargelegt habe, ist der Mäusefütterungsversuch bei der prophylaktischen und retrospektiven Fleischuntersuchung verwertbar, wenn der Mäusebestand nicht verseucht ist und die Versuchsanordnung selbst eine solche ist, daß die Mäuse nicht unter den Einflüssen von Kälte und Nässe erkranken. Die Mißerfolge, welche eine Reihe von Autoren bei Untersuchungen über die Verwendbarkeit von Mäusen zum Fleischfütterungsversuch hatten, lassen sich sämtlich darauf zurückführen, daß entweder der Mäusebestand latent verseucht war, oder die Mäuse mangels einer geeigneten Versuchsanordnung den Einflüssen von Nässe und Kälte erlagen.

Unter kritischer Würdigung der Versuchsergebnisse aller Experimentatoren, die sich mit der Frage der Verwendbarkeit des Mäusefütterungsversuches beschäftigt haben, und der von mir im Laufe der

Jahre gesammelten Erfahrungen bei eingehender Beschäftigung mit dieser Frage habe ich folgende Sätze über den Wert und Zweck des Mäusefütterungsversuches sowie die Art und Weise der Ausführung desselben aufgestellt:

- 1) Der Fleischfütterungsversuch an Mäusen zum Zwecke der prophylaktischen Fleischuntersuchung setzt das Vorhandensein eines gesunden, seuchenfreien Mäusebestandes voraus.
- 2) Mäusebestände, welche mit Bakterien der Paratyphus- oder Gärtner-Gruppe chronisch bzw. latent verseucht sind, können zum Fleischfütterungsversuch nicht verwendet werden, da der Umschlag der chronischen Infektion der Mäuse in eine akute infolge der Fleischaufnahme zu falschen Schlußfolgerungen bei einwandfreiem Fleische führt.
- 3) Bei Verwendung eines seuchenfreien Mäusebestandes vermag der Fleischfütterungsversuch mit rohem, gekochtem und gepökeltem Fleische kein positives Ergebnis bezüglich des Vorhandenseins von Fleischvergiftungsbakterien im Fleische vorzutäuschen.
- 4) Der Mäusefütterungsversuch hat nicht den Zweck, das Vorhandensein von Fleischvergiftungsbakterien zu erbringen, sondern er soll beim kulturellen Nachweis von Bakterien der Fleischvergiftungsgruppe in differentialdiagnostischer Hinsicht entscheiden, ob den kulturell nachgewiesenen Bakterien die Fähigkeit der Bildung thermostabiler, d. h. Fleischvergiftung erzeugender Gifte in dem zu untersuchenden Fleische zukommt oder nicht.
- 5) Das Vorhandensein alimentär wirkender, Fleischvergiftung erzeugender Gifte im Fleische von Schlachttieren läßt sich bei der prophylaktischen Fleischuntersuchung nur durch den Mäusefütterungsversuch erbringen.
- 6) Durch die unzweckmäßige Ausführung des Mäusefütterungsversuches kann auch im Fleisch gesunder Tiere selbst bei Verwendung seuchenfreier Mäuse eine nicht vorhandene Giftwirkung vorgetäuscht werden. Insbesondere täuscht der Mäusefütterungsversuch bei Einwirkung von Kälte oder Nässe auf die Versuchstiere das Vorhandensein thermostabiler Gifte im Fleische gesunder Schlachttiere vor.
- 7) Zum Zwecke der Ausführung des Fleischfütterungsversuches bildet das Mäuseglas nur dann eine geeignete Behausung für die Versuchstiere, wenn dasselbe mit einem schlechten Wärmeleiter (Holzplatte) als Bodeneinlage versehen und die Glaswand ständig warm temperiert ist.
- 8) Bei zweckentsprechender Anordnung des Fleischfütterungsversuches verzehren die Mäuse innerhalb von 12—18 Stunden eine so große Fleischmenge, daß hieraus ein brauchbarer Rückschluß auf das Vorhandensein oder die Abwesenheit von Fleischvergiftung erzeugenden Giften in dem zu untersuchenden Fleische gezogen werden kann.
- 9) Beim Vorhandensein Fleischvergiftung erzeugender Gifte in der Muskulatur eines infizierten Schlachtieres gehen die Versuchsmäuse in der Regel nach dem Genuß geringer roher oder gekochter Fleischmengen innerhalb kurzer Frist ein.
- 10) Die prophylaktische und retrospektive Fleischuntersuchung ist ohne den Mäusefütterungsversuch eine unvollständige, da sie das Vorhandensein oder die Abwesenheit thermostabiler, alimentär wirkender Gifte im Fleische ohne den Fütterungsversuch nicht erbringen kann.

Die Prüfung des Fleisches des notgeschlachteten Ochsen von St. Johann auf das Vorhandensein von enteral wirkenden Toxinen im Mäusefütterungsversuch hatte bei 12 gefütterten Mäusen folgendes Ergebnis:

#### I. Fütterung mit rohem Fleisch am 27. Juli.

Maus 1 † am 28. Juli.

Befund: hochgradige Enteritis des Dünndarmes.

Maus 2 † am 28. Juli.

Befund: Blutaustritt aus dem After und hochgradige Enteritis.

Maus 3 † am 29. Juli.

Befund: Blutaustritt aus dem After und hochgradige Enteritis.

Maus 4, † am 29. Juli.

Befund: Entzündung des Dünndarmes; Dickdarm gasig aufgetrieben, Kotballen hellgelb.

Maus 5 † am 31. Juli.

Befund: Entzündung des Dünndarmes, Schwellung der Milz.

Maus 6 † am 3. Aug.

**Befund:** Entzündung des Dünndarmes, blutiger Inhalt im Hüft Darm und Dickdarm; Schwellung der Mesenterialknoten, der Milz und Leber; Blutungen in der Lunge und Subcutis.

Die kranken Mäuse zeigten stark gesträubtes Haarkleid, gekrümmten Rücken und Atemnot; zeitweilig Krampfanfälle. Am schnellsten gingen die mit Halsmuskulatur gefütterten Mäuse No. 1—4 ein. Maus 5 und 6 waren mit Zungenmuskulatur gefüttert worden.

Auffallend war fernerhin der Befund, daß die aus den Organen der Mäuse angelegten Platten zwar zahlreiche verdächtige Kolonien aufwiesen, daß die Kolonien jedoch von Gärtner-Serum nicht im hängenden Tropfen agglutiniert wurden. Rimpau, der die gleiche Beobachtung machte, erwähnt, daß die Agglutinabilität nach Ueberimpfung auf Agar wieder zu beobachten war.

## II. Fütterung mit 15 Minuten lang gekochtem Fleisch am 27. Juli.

Maus 7 † am 29. Juli

„ 8 † „ 29. „

„ 9 † „ 30. „

„ 10 † „ 1. August

„ 11 nicht eingegangen, getötet am 3. August

„ 12 „ „ „ „ 5. „

Der Sektionsbefund bei den Mäusen ergab leichtere und stärkere Entzündung des Darmes neben parenchymatöser Leber- und Nierendegeneration. Darminhalt frei von Gärtner-Bakterien. Bei den beiden überlebenden Mäusen war der Sektionsbefund ein negativer.

Beim Vergleich der beiden mit rohem keimhaltigen und gekochtem keimfreien Fleisch angestellten Versuchsreihen ergibt sich, daß die Wirkung des rohen Fleisches infolge von gleichzeitiger Infektion und Intoxikation der Mäuse eine wesentlich stärkere war als die des gekochten Fleisches. Letzteres verursachte zwar durch seinen Giftgehalt das Eingehen von 4 Mäusen, wirkte indessen auf 2 Mäuse nicht schädigend ein.

Rimpau stellte bei Fütterungsversuchen mit dem Fleische des St. Johanner Ochsen fest, daß die Giftwirkung des Fleisches selbst nach 4-stündigem Kochen noch vorhanden war und gefütterte Mäuse binnen 2 Tagen der Fütterung erlagen. Dagegen erwies sich parenterale Applikation keimfrei filtrierten Preßsaftes aus roher Muskulatur nur als schwach schädigend für Versuchstiere. 2 Mäuse, die  $1\frac{1}{2}$  und 2 ccm Preßsaft intraperitoneal injiziert bekamen, zeigten nach 2—3 Stunden leichte Krämpfe und Lähmungserscheinungen (Aggressinwirkung?), waren aber am anderen Tage wieder völlig fgesund.

Die Fähigkeit der Bildung enteral wirkender thermostabiler Gifte scheint eine den Gärtner-Bakterien nur unter ganz gewissen Bedingungen zukommende Eigenschaft zu sein, da die Bakterien bei kultureller Weiterzüchtung die Eigenschaft der Giftbildung wieder schnell verlieren. Wenigstens ist es mir nicht gelungen durch die künstliche Infektion von Rindfleisch mit dem vier Wochen alten St. Johanner Stamm im Fütterungsversuch nachweisbare Gifte zu erzeugen. — Ein am 17. August stark mit dem St. Johanner Stamm infiziertes, 2 Pfd. schweres Stück Rindfleisch wurde 3 Tage lang bei 37° und weiterhin bei Zimmertemperatur gehalten. Die nach 3-, 5- und 7-tägiger Aufbewahrung an weiße Mäuse gefütterten, 30—45 Minuten lang gekochten Fleischstücke vermochten in keinem Falle die Tiere zu schädigen, wohin-

gegen 2 mit rohem infizierten Fleisch gefütterte Mäuse nach 4 und 5 Tagen an einer Enteritisseptikämie eingingen.

Die Prüfung des Fleisches der in Kochel notgeschlachteten Kuh und des notgeschlachteten Kalbes im Mäusefütterungsversuch hatte folgendes Ergebnis:

**I. Fütterung mit rohem Kocheler Kuhfleisch am 17. Juni.**

2 weiße Mäuse des Glases I gehen am 26. und 28. Juni ein.

Sektionsbefund: Enteritis; Meteorismus des Dickdarmes; Milztumor, Schwellung der Leber und der Lymphknoten.

Bakteriologischer Befund: In allen Organen sind Paratyphusbakterien in großer Menge kulturell nachweisbar = Paratyphusseptikämie.

2 grauweiße Bastardmäuse des Glases II zeigen bis zum 2. Juli keinerlei Krankheitserscheinungen und werden am 2. Juli zur näheren Untersuchung getötet.

Sektionsbefund: negativ.

Bakteriologischer Befund: In Gallenanreicherungen aus Lymphnoten, Milz, Leber und Herzblut sind keine Paratyphusbakterien nachweisbar.

Das negative Ergebnis dieses Fütterungsversuches ist entweder auf die größere Resistenz der grauweißen Bastardmäuse zurückzuführen oder es waren in der verfütterten Muskulatur keine größeren infizierten Blutgefäße vorhanden, da in der Muskulatur selbst, wie ich schon oben bemerkt habe, keine Paratyphusbakterien kulturell nachweisbar waren.

Eine weitere, ebenfalls mit rohem Kuhfleisch gefütterte weiße Maus des Glases III zeigte bis zum 2. Juli keinerlei Krankheitserscheinungen und wurde daher am 2. Juli zur näheren Untersuchung auf eine vorliegende latente Infektion getötet.

Sektionsbefund: Schwellung der Milz und Leber; in beiden Organen kleine nekrotische Herde.

Bakteriologischer Befund: Die Gallenanreicherungen aus Mesenteriallymphknoten, Milz und Leber enthalten Paratyphusbakterien; dagegen ist in den Gallenanreicherungen aus dem Herzblut und der Muskulatur keine Infektion nachweisbar.

Im vorliegenden Falle war also die mit dem infizierten Kuhfleisch aufgenommene Bakterienmenge und deren Virulenz nicht hinreichend genug, um eine Paratyphusseptikämie mit tödlichem Ausgange bei der Maus in 15 Tagen auszulösen.

**II. Fütterung mit rohem Kocheler Kalbfleisch am 17. Juni.**

Von 2 weißen Mäusen des Glases IV geht 1 Maus am 1. Juli ein, die zweite Maus wird am 2. Juli getötet.

Maus I, 14 Tage nach begonnener einmaliger Fütterung eingegangen.

Sektionsbefund: Schwellung der Milz und der Lymphknoten, Entzündung des Dünndarmes.

Bakteriologischer Befund: Paratyphusseptikämie.

Maus II, ohne sichtliche Krankheitserscheinungen nach 15 Tagen getötet.

Sektionsbefund: Schwellung der Milz und Entzündung des Dünndarmes.

Bakteriologischer Befund: In den Gallenanreicherungen von den Mesenteriallymphknoten, der Milz und Leber sind Paratyphusbakterien vorhanden; im Herzblut und der Muskulatur sind dagegen keine Keime nachweisbar.

2 weiße Mäuse des Glases V und eine weißgraue Bastardmaus des Glases VI werden mit solchen Muskelstücken des Kalbfleisches gefüttert, die große Hämorrhagien enthalten. Die 3 Mäuse sind am 2. Juli ohne Krankheitserscheinungen und werden zur Untersuchung auf eine vorhandene latente Infektion getötet.

**Sektionsbefund:** Bei allen 3 Mäusen leichter Milztumor.

**Bakteriologischer Befund:** In den Galleanreicherungen aus den Mesenterialknoten, Milz, Leber, Muskulatur und Herzblut der 3 Mäuse ist keine Infektion nachweisbar.

Dieser Befund stimmt insofern mit der kulturellen Untersuchung der hämorrhagischen Teile des Kalbfleisches überein, als sich die hämorrhagischen Teile ja auch bei der kulturellen Prüfung entweder nur schwach oder gar nicht mit Paratyphusbakterien infiziert erwiesen, während man a priori das Gegenteil — also eine starke bakterielle Infektion dieser Teile — anzunehmen geneigt ist.

Das Gesamtergebnis der Fütterungsversuche mit dem rohen Kalb- und Kuhfleisch, das zu der Kocheler Epidemie Veranlassung gab, zeigt, daß die schädigende Wirkung des Fleisches entsprechend der nicht hochgradigen septikämischen Infektion des Fleisches eine verschiedengradige, jedenfalls keine so hochpathogene wie im St. Johanner Fall war. Im Fütterungsversuch ist hier ein ganz ähnliches Verhalten der Mäuse wie beim Menschen zu beobachten, dahin gehend, daß bei nicht hoher Virulenz des Erregers nicht alle Individuen erkranken, und daß der Ablauf der den Körper ergreifenden Infektion ein verschiedengradiger im Hinblick auf das Ergriffenwerden der Körperparenchyme, insbesondere hinsichtlich des Blutes und der Muskulatur ist.

Beiläufig erwähnt sei noch, daß auch 4 Meerschweinchen mit reichlichen Mengen des rohen Kuh- und Kalbfleisches am 17. Juni gefüttert wurden. Am 14. Juli wurden die Tiere, ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, getötet. Bei den 4 Tieren konnte keine Infektion nachgewiesen werden. Die Anreicherungen der Mesenteriallymphknoten, der Milz, Leber und Muskulatur, sowie des Herzblutes in Galle ergab nirgends das latente Vorhandensein von Paratyphusbakterien.

Im Hinblick auf die schwache intravitale Infektion des menschenpathogen gewesenen Fleisches infizierte ich gesundes Rindfleisch in stärkerem Grade mit dem Kocheler Paratyphusstamm.

Mit diesem rohen, postmortal infizierten Fleisch wurden am 22. Juni 2 weiße und 2 grauweiße Bastardmäuse gefüttert.

Die beiden weißen Mäuse starben am 26. Juni, also bereits nach 4 Tagen.

**Sektionsbefund bei weißer Maus 1 und 2:** Hochgradige Enteritis, Schwellung der Milz, Leber und Lymphknoten.

**Bakteriologischer Befund:** Paratyphusseptikämie.

Von den beiden weißgrauen Bastardmäusen stirbt die eine Maus am 30. Juni, also nach 8 Tagen.

**Sektionsbefund:** Hochgradige Enteritis; Schwellung der Milz, Leber und Lymphknoten.

**Bakteriologischer Befund:** Paratyphusseptikämie.

Die zweite weißgraue Bastardmaus wird am 3. Juli krank getötet.

**Sektionsbefund:** Hochgradige Enteritis; Schwellung der Milz, Leber und Lymphknoten.

**Bakteriologischer Befund:** Milz, Leber und Lymphknoten enthalten Paratyphusbakterien; dagegen sind solche in Galleanreicherungen aus dem Herzblut und der Muskulatur nicht nachweisbar.

Die Fütterung von Fleisch, das künstlich mit dem Kocheler Paratyphusstamm infiziert worden war, erwies sich somit für Mäuse als stärker pathogen wie das Fleisch der intravital erkrank-

ten Kuh und des intravital erkrankten Kalbes. Hierbei ist jedoch in Betracht zu ziehen, daß die künstliche postmortale Infektion sehr stark gewählt wurde, wohingegen die Infektion des intravital infizierten Fleisches trotz der längeren Aufbewahrung bei schwüler Jahreszeit eine sehr schwache war. Der pathogene Effekt von Fleisch, das Fleischvergiftungsbakterien enthält, ist also offensichtlich vom Grad der bakteriellen Infektion abhängig.

Fernerhin wurden zur Prüfung auf das Vorhandensein thermostabiler Gifte in dem Kocheler Kuh- und Kalbfleisch noch Fütterungsversuche mit gekochtem Fleisch angestellt.

10 Minuten lang gekochte kleinere Fleischstücke der notgeschlachteten Kuh und des notgeschlachteten Kalbes wurden an insgesamt 6 Mäuse 5 Tage lang verfüttert.

Hierbei verzehrten alle Mäuse Fleischmengen, die annähernd dem eigenen Körpergewicht der Mäuse (20 g) entsprachen, ohne zu erkranken. 2 nach Ablauf von 14 Tagen getötete und auf das etwaige Vorhandensein von Keimen in den Organen geprüfte Mäuse ließen weder Veränderungen an den Organen noch Paratyphusbakterien in Herz, Leber, Milz und Mesenteriallymphknoten erkennen.

Das Fleisch der Kuh und des Kalbes von Kochel, die beide an Paratyphusseptikämie erkrankt und notgeschlachtet waren, enthielt somit keine experimentell nachweisbaren thermostabilen Gifte. Die durch den Genuß des Fleisches der notgeschlachteten Kuh bedingten Erkrankungen dürften somit hauptsächlich auf infektiöser Basis erfolgt sein.

Gelegentlich der St. Johanner Epidemie hat Rimpau darauf hingewiesen, daß die Bedeutung der toxischen Komponente in der Krankheitserzeugung beim Menschen zuweilen zu hoch eingeschätzt wird, da die Angaben, daß nur „gekochtes“ Fleisch genossen worden sei, nicht hinreichend seien, um das Freisein gekochten Fleisches von vermehrungsfähigen, zu einer enteralen Infektion führenden Keimen annehmen zu können. Ich habe in ähnlicher Weise wie Rimpau bei Fütterungsversuchen mit gekochtem Fleisch, welches postmortal sehr stark zwecks Nachweisbarkeit thermostabiler Gifte mit dem Kocheler Paratyphusstamm infiziert worden war, ebenfalls beobachtet, daß ein etwa 10 Minuten langes Kochen der etwa 25 g schweren Fleischstücke scheinbar nicht hinreichend war, um die in dem Fleische enthaltenen Paratyphusbakterien völlig abzutöten. — Von 4 mit gekochtem, hochinfiziertem Fleisch gefütterten Mäusen gingen 2 Mäuse eines Glases nach 9 und 11 Tagen an einer Paratyphusseptikämie ein, während die beiden anderen Mäuse sich bei der Tötung nach 14 Tagen als nicht infiziert erwiesen. Nicht ganz ausgeschlossen ist in den vorliegenden Fällen vielleicht eine zufällige Infektion der Mäuse bei der Wartung, da die Gläser räumlich nicht von den Gläsern mit infiziertem Fleisch getrennt waren.

Die vorstehenden Ausführungen zeigen, daß die Enteritis- und Paratyphusseptikämie der Schlachttiere mit der eiterig-jauchigen Blutvergiftung, wie sie die Fleischschau in Beziehung zur Entstehung von Fleischvergiftungen bringt, nichts zu tun hat. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Wassermannsche Reaktion im Blutserum, Bauchhöhlenflüssigkeit und Harn eines und desselben Kranken.

[Aus einer k. u. k. Wassermannschen Station.]

Von Dr. J. Kostrzewski, k. u. k. Regimentsarzt in d. R.

Es ist bekannt, daß der positive Befund der Wassermannschen Reaktion aus dem Blute keine topische, d. h. Organdiagnose ist; er spricht nur von der stattgehabten Luesinfektion. Anders ist es bei dem Untersuchungsergebnis der Cerebrospinalflüssigkeit, welche auch unabhängig von dem Blutserum eine positive Wassermannsche Reaktion geben kann; ist in dieser eine positive Wassermannsche Reaktion festgestellt, so weist sie auf die Erkrankung des Zentralnervensystems hin. Wie aber die positive Wassermannsche Reaktion bei anderen, möglicherweise zur Untersuchung kommenden Körperflüssigkeiten (Exsudat, Harn) aufzufassen ist, ob die lokale Bildungsstätte desluetischen „Ambozeptors“ analog der Cerebrospinalflüssigkeit in denselben vorkommen kann, oder ob eine positive Wassermannsche Reaktion in diesen nur eine Folge der Bluteigenschaften ist, darüber ist noch recht wenig bekannt; dies veranlaßt uns, den folgenden Fall zu beschreiben:

Es handelt sich um einen 34 Jahre alten Mann, der nach 1½-monatiger Spitalsbehandlung am 8. Jan. 1917 gestorben ist. (Intern. Abt. des hiesigen Garnisonspitales.) Der anatomische Befund lautet (Prof. Dr. Gliński):

*Tuberculosis fibrosa cum cavernis obsoletis apicis pulmonis utriusque; tuberculosis miliaris dispersa pulmonum (valde pauca tubercula); cicatrices lobii inferioris pulmonis sinistri cum bronchiectasibus; amyloidosis renum, lienis (diffusa); hydrops universalis; laparotomia facta; abscessus incapsulatus in cicatrice post laparotomiam; peritonitis purulenta.*

Nebst der anatomischen Diagnose wird noch in extenso aus dem Leichenuntersuchungsprotokoll die Beschreibung der nachstehenden Organe gegeben:

Leber, makroskopisch normal; mikroskopisch: spärliche Arterienverzweigungen amyloid entartet (Gentianaviolett).

Milz, makroskopisch: deutlich vergrößert, fester Konsistenz (13,5 × 9 × 4,5 cm); Parenchym dunkelkirschrot, plastisch, färbt sich mit Jod ziemlich gleichmäßig dunkelbraun; mikroskopisch: sehr ausgedehnte diffuse Amyloidentartung (Gentianaviolett); nur hier und da sieht man unverändertes lymphatisches Gewebe (Lymphfollikel).

Nieren makroskopisch stark vergrößert (links 13 × 7 × 5,5 cm, rechts 12,5 × 7 × 4,5 cm); Kapsel leicht abhebbar, Oberfläche glatt; vereinzelte, kleine, rötlich verfärbte Einziehungen werden nur sehr spärlich vorgefunden; Parenchym mäßig blutreich; Medullarsubstanz rot verfärbt, Rinde sehr breit, gelblichweiß, Zeichnung gänzlich verwischt; mikroskopisch: eine sehr starke Amyloidentartung der Glomeruli, der Vasa afferentia et Arteriae interlobulares; hier und da (sehr selten) auch Tunicae propriae der geraden Harnkanälchen amyloid entartet (Gentianaviolett); die Epithelien, besonders der Tubuli contorti, sind stark aufgequollen, grobwandig vakuolisiert und enthalten zahlreiche, gröbere Tropfen von hyalinem Aussehen, mitunter auch spärliche Fetttropfen; die Kerne sind meistens unsichtbar; die übrigen Epithelien sind stark fettig degeneriert (Fett und nadelförmige Lipide in gefrorenen und mit Scharlach R. gefärbten

Präparaten). Zahlreiche, mit Fett und Lipoiden beladene Epithelien liegen frei im Lumen der Harnkanälchen; auch in interstitiellem Gewebe findet man Anhäufungen (extra- und intrazellulär) der Lipoide; im Lumen der Harnkanälchen sehr zahlreiche, dicke Zylinder von glänzendem, hyalinem Aussehen, abgestoßene nekrotische und verfettete Epithelien, geronnenes Eiweiß, stellenweise auch ziemlich reichliche polynukleäre Leukozyten; Interstitiumsubstanz der Rinde stark gequollen, kleinzellig infiltriert (mit reichlicher Beimischung polynukleärer Leukozyten).

Die übrigen Organe sind in der anatomischen Diagnose genug charakterisiert oder zeigen keine nennenswerten Veränderungen, die eine genaue Beschreibung erforderten. Der Kranke zeigte bei der Aufnahme ins Spital und während der ganzen Spitalsbehandlung starken Hydrops universalis, Ascites und hochgradige Albuminurie. Die Peritonitis purulenta ist nach der Laparotomie entstanden; diese wurde vorgenommen, weil klinisch ein Tumor in der Pankreasgegend vorgetäuscht wurde; daß er nur vorgetäuscht wurde, hatte sowohl die Laparotomie wie auch die Nekroskopie festgestellt. Von der Krankengeschichte ist in Anbetracht der Schilderung der anatomischen Organveränderungen nichts Wertvolles beizufügen.

Nachdem mit dem Blutserum des Kranken die Wassermannsche Reaktion positiv ausgefallen war, untersuchte man in dieser Richtung auch die Bauchhöhlenflüssigkeit und den Harn. Maßgebend bei dem Untersuchungsvorgang war für uns die Ansicht, daß der reagierende „Ambozeptor“ an den Globulinen haftet. Dies ist zwar nicht die einzige Anschauung über die Natur desluetischen „Ambozeptors“, jedoch scheint sie durch experimentelle Tatsachen mehr als andere (Nukleoproteide, Lipoideiweißverbindungen sollen Träger desluetischen „Ambozeptors“ sein) begründet zu sein. Bevor wir also an die Ausführung der Wassermannschen Reaktion in der Bauchhöhlenflüssigkeit und dem Harn gingen, überzeugten wir uns, daß dieselben Globuline enthalten. Bei Ausführung der Wassermannschen Reaktion mit einem Exsudat sind keine besonderen Maßnahmen nötig, als nur, daß man bei geringerem Eiweißgehalte der betreffenden Flüssigkeit im Vergleich mit dem Blutserum, diese in größeren Quanten, als Serum zur Anstellung der Probe anzuwenden pflegt. Anders steht es mit dem Harn; R. Bauer hat durch seine Untersuchungen gezeigt, daß der Harn ein für die Wassermannsche Reaktion geeignetes Material bildet (außerdem, daß er Globuline enthalten muß), aber nur dann, wenn er entsprechend mit  $\frac{1}{10}$  N. NaOH neutralisiert wird; sonst kann er eigenhemmend auf das hämolytische System wirken.

Unser Untersuchungsgang war folgender: Die Wassermannsche Reaktion mit der Bauchhöhlenflüssigkeit bzw. Harn wurde jedesmal in 2 Reihen angestellt; in der einen wurde das Untersuchungsmaterial zu 0,2 ccm, und Antigen in 3 verschiedenen Mengen, 0,3, 0,2 und 0,1 ccm genommen (analog der Blutserumuntersuchung); in der anderen wieder wurden Harn bzw. Bauchhöhlenflüssigkeit in absteigenden Dosen zu 1,0, 0,8, 0,6, 0,4, 0,2 ccm und Antigen ständig zu 0,3 ccm verwendet (analog der Cerebrospinalflüssigkeitsuntersuchung). Die Antigene waren alkoholische Luesleberextrakte; die Wassermannsche Reaktion wurde immer in paralleler Doppelreihe, in jeder mit je einem anderen Antigen, angestellt; jedesmal aber wurden in den Versuchen dieselben 2 Antigene gebraucht; das Gesamtvolumen, in welchem man arbeitete, betrug 3 ccm. Vor der Anwendung zur Wassermannschen Reaktion brauchte die Bauchhöhlenflüssigkeit nur inaktiviert zu werden; der Harn dagegen wurde zuerst neutralisiert. Wir neutralisierten ihn aber nicht mit  $\frac{1}{10}$  N. NaOH, sondern mit 10-proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung, und als Indikator gebrauchten wir Lackmuspapier. Zum Harn wurden so viele Tropfen der 10-proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung hinzugefügt, bis das rote Lackmuspapier deutlich blau



wurde; vor der Anstellung der Wassermannschen Reaktion wurde der so neutralisierte Harn auch  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $56^{\circ}\text{C}$  „inaktiviert“. Die Inaktivierung des Harnes wurde vorgenommen, um dadurch die Eigenhemmung der Globuline auszuschalten.

Es zeigte sich aber bei der Arbeit, daß der Harn, obwohl neutralisiert, starke Eigenhemmung verursachte. In der Annahme, daß vielleicht die Hämolyse ein zu hoher osmotischer Druck des so alkalisierten Harnes beeinträchtigte, verdünnten wir den schon alkalisierten Harn mit Aqua destillata 1:2 und 1:4, und die Wassermannsche Reaktion wurde sowohl mit dem unverdünnten Harne wie mit dessen Verdünnungen angestellt. Auf diese Weise arbeiteten wir neben dem eigenhemmenden, unverdünnten Harne noch mit den nicht hemmenden Harnverdünnungen. Aber die nicht eigenhemmenden Harnverdünnungen verloren, entsprechend ihren Verdünnungsgraden, an Eiweiß bzw. Globulingehalt. Verarmt der Träger des luetischen „Ambozeptors“ an Globulinen, bildeten in dieser Beziehung die Harnverdünnungen ein weniger wertvolles Untersuchungsmaterial als der unverdünnte Harn.

Nach diesem Untersuchungsgange wurde die Wassermannsche Reaktion mit dem unverdünnten Harne und dessen Verdünnungen in Zeitintervallen von einigen Tagen 7mal ausgeführt; 6mal davon schwankte das spezifische Gewicht des Harnes zwischen 1025—1030, der Eiweißgehalt zwischen 1,65—2,97 Proz. (Stolnikoff) und der Aziditätsgrad betrug 6—8 Tropfen der 10-proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung auf 10 ccm des Harnes. Der Globulingehalt wurde bestimmt nach der Stärke der Harnverdünnung, und zwar der letzten, welche nach Zusatz der gleichen Menge der bei Zimmertemperatur gesättigten  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung, nach 10 Minuten langem Stehen noch eine deutlich opaleszierende Trübung zeigte. Auf diese Weise bestimmt, schwankte der Globulintiter von  $\frac{1}{80}$  bis  $\frac{1}{150}$  der mit physiologischer  $\text{NaCl}$  hergestellten Harnverdünnung. Die Harnverdünnung wird verstanden vor dem Zusatz des gleichen Volumens der  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung. Nur 1mal zeigte der einige Stunden vor dem Tode des Kranken abgegebene Harn ein spezifisches Gewicht von 1055, 6,6 Proz. Eiweiß (Stolnikoff), Globuline noch in  $\frac{1}{1000}$  Harnverdünnung. Zu 10 ccm Harn mußten 12 Tropfen 10-proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung gegeben werden, um dieselben auf Lackmus alkalisch zu machen. — Eine positive Wassermannsche Reaktion in der ersten Reihe, analog der Blutserumuntersuchung, erhielten wir nur 1mal, und zwar nur mit dem zuletzt beschriebenen Harne im unverdünnten Zustande (Kontrolle: 0,4 ccm Harn ohne Antigen, vollständige Hämolyse; in allen 3 anderen Röhrchen keine Spur von Hämolyse); in den übrigen 6 Fällen war sie negativ ausgefallen. In der zweiten Reihe, analog der Cerebrospinalflüssigkeitsuntersuchung, wurde die Wassermannsche Reaktion 2mal positiv gefunden: am 2. Jan. 1917 zeigte der Harn folgende Eigenschaften: spezifisches Gewicht 1030, Eiweiß 2,97 Proz. (Stolnikoff), Globulintiter  $\frac{1}{150}$  Harnverdünnung; 1 ccm des unverdünnten Harnes verursacht vollständige Eigenhemmung; 1 ccm der Harnverdünnung mit Aqua destillata  $\ddot{a}$  stört nicht im geringsten das hämolytische System. Der positive Befund wurde aber erst in der Verdünnung des Harnes von 1:4 abgelesen, und zwar deshalb, weil die Kontrolle (das Doppelte der größten untersuchten Dosis ohne Antigen) 1 ccm der 1:2 Harnverdünnung ist; im Wassermannschen Versuch zeigt die Harnverdünnung 1:4 in den Dosen 1,0, 0,8 ccm keine Spur von Hämolyse, in 0,6 ccm nur eine Spur, und in den kleineren Dosen vollständige Hämolyse.

lyse. Zum zweiten Male wurde die Wassermannsche Reaktion positiv konstatiert in demselben Harn, der schon in der ersten Reihe nach Art der Serumuntersuchung positiv reagierte; auch bei diesem Harn wurde das Resultat erst in der Verdünnung von 1:4 abgelesen, der Kontrolle wegen, welche ebenfalls 1 ccm der 1:2 Harnverdünnung war, d. h. das hämolytische System nicht in geringstem schädigte. Im Wassermann-Versuch zeigten 1,0, 0,8 und 0,6 ccm der  $\frac{1}{4}$  Harnverdünnung keine Spur, die kleineren Dosen aber vollständige Hämolyse. Warum wir die Wassermannsche Reaktion nicht alle 7mal positiv, sondern nur 2mal in der Reihe nach der Art der Cerebrospinalflüssigkeitsuntersuchung (Harnverdünnungen) und nur 1mal in der Reihe nach der Serumuntersuchungsart (unverdünnter Harn) erhalten haben, wird ganz verständlich, wenn man berücksichtigt, daß Globuline, die Träger des luetischen „Ambozeptors“, in den positiv reagierenden entschieden viel reichlicher vorhanden waren, als in den negativ reagierenden Harnen; in den negativen Harnen war offenbar der Globulingehalt zu gering, um die positive Wassermannsche Reaktion zu verursachen.

Mit der Bauchhöhlenflüssigkeit wurde die Wassermannsche Reaktion in 2-wöchigen Zeitintervallen 2mal ausgeführt, beide Male mit negativem Resultate. Die Bauchhöhlenflüssigkeit war fast farblos, sehr stark opaleszierend und dadurch beinahe undurchsichtig; wurde sie ruhig die ganze Nacht hindurch stehen gelassen, so bekommt sie an ihrer Oberfläche keine rahmartige Schicht; mit Aether läßt sich kein Fett extrahieren; nach der Behandlung mit Aether schwindet die Opaleszenz nicht; sie wird also nicht durch Fetttropfchen, sondern nur durch Nukleine hervorgerufen. Das spezifische Gewicht war 1007; die Flüssigkeit enthielt 0,3 Proz. Eiweiß (Stolnikoff) und der Globulintiter war  $\frac{1}{15}$ ; sehr feine Gerinnsel waren in der Flüssigkeit nur spärlich zu finden.

Nachdem wir mit der Bauchhöhlenflüssigkeit die Wassermannsche Reaktion negativ erhalten hatten, war zu eruieren, ob die negative Wassermannsche Reaktion in derselben dadurch bedingt ist, daß die Globuline der Bauchhöhlenflüssigkeit nicht dieselben Eigenschaften wie die des Blutserums desselben Kranken besitzen, oder ob die negative Wassermannsche Reaktion in der Bauchhöhlenflüssigkeit nicht durch die Qualität der Globuline, sondern durch ungenügendes Vorhandensein derselben in der Bauchhöhlenflüssigkeit verursacht ist.

Wir haben daher aus dem Blutserum des Kranken in physiologischer Kochsalzlösung Verdünnungen hergestellt, und zwar eine vom Globulintiter 1:20, die andere von 1:10 Globulintiter; die Wassermannsche Reaktion (nach der Cerebrospinalflüssigkeitsuntersuchungsart ausgeführt) ist mit der einen, wie der anderen Serumverdünnung positiv ausgefallen; die Serumverdünnung mit dem Globulintiter 1:20 bewirkte vollständige Hemmung in 1,0, 0,8 und 0,6 ccm, jene mit dem Globulintiter 1:10 in den Dosen 1,0 und 0,8 ccm. Diese Versuche haben gezeigt, daß gleiche Quanten der Globuline der Bauchhöhlenflüssigkeit einerseits und der Serumverdünnung andererseits eines und desselben Kranken in der Wassermann-Probe ein ungleiches Verhalten aufweisen. Ebenso verhalten sich die Globuline des Harnes desselben Kranken, die eine positive Wassermannsche Reaktion erst beim Titer  $\frac{1}{37}$  der Harnverdünnung geben. Dasselbe hat R. Bauer bei seinen Harnuntersuchungen nach der Wassermannschen Methode festgestellt; er glaubt, daß die chemischen Bestandteile des Harnes irgendwie

auf die Globuline wirken, daß diese nicht in demselben Grade komplementablenkend wirken, wie die Serumglobuline desselben Kranken. In unseren Versuchen konstatierten wir diese Tatsache nicht nur für die Harnglobuline, sondern auch für die der Bauchhöhlenflüssigkeit; infolgedessen ist die Bauersche Deutung nicht zutreffend: eine andere wissen wir auf Grund dieses einen Falles nicht zu geben. Die Frage der Stärke der komplementablenkenden Eigenschaften der Globuline bei gleichem Titer desselben im Blutserum einerseits, und im Harn bzw. Exsudat andererseits bei einem und demselben Kranken bedarf weiterer Erforschung und kasuistischer Beobachtungen, um daraus irgendwelche Folgerungen ziehen zu können.

Bauer hat in seinen Untersuchungen 5mal positive Wassermannsche Reaktion gefunden, aber allemal nur bei Kranken, deren Serum positive Reaktion zeigte. Die Frage, ob die positive Wassermannsche Reaktion im Harne durch spezifisches Nierenleiden verursacht, oder nur durch Beimengung der Serumglobuline bei Luetikern mit positiver Wassermannscher Reaktion im Blute und nichtluetischer Nierenerkrankung hervorgerufen war, konnte er nicht entscheiden. In ähnlicher Lage sind auch wir, trotzdem wir über histologische Untersuchungen (dank dem Herrn Prof. Gliński) verfügen. Diese scheinen für die luetische Natur der Nierenerkrankung zu sprechen; mag aber die pathologisch-anatomische Diagnose noch so sicher sein, so bleibt trotzdem die Frage der lokalen Bildungsstätte des luetischen „Ambozeptors“ offen, solange nicht ein Fall einer positiven Wassermannschen Reaktion im Harne, bzw. Exsudat bei einem Kranken bekannt sein wird, dessen Serum negativ reagiert. Bis dahin bleibt auch der positive Befund der Wassermannschen Reaktion im Harne, bzw. Exsudat ohne Bedeutung für die Aetiologie der Erkrankung des betreffenden Organes.

Ausführlich wurde gleich am Anfange der Arbeit auseinandergesetzt, daß wir den Harn nicht nach dem Bauerschen Vorgange mit  $\frac{1}{10}$  N. NaOH neutralisierten, sondern mit 10-proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung, und als Indikator nicht Phenolphthalein, sondern Lackmus gebrauchten. Als wir aber, trotzdem die Azidität des Harnes behoben wurde, seine eigenhemmenden Eigenschaften nicht geschwunden, sondern nur abgeschwächt gesehen hatten, arbeiteten wir mit Harnverdünnungen. Wir dachten, wie schon erwähnt wurde, an die Möglichkeit einer störenden Wirkung auf das hämolytische System, des osmotischen Druckes des auf unsere Weise neutralisierten Harnes; eine andere Möglichkeit war jedoch nicht ausgeschlossen, und zwar die, daß sich die  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung gegenüber dem hämolytischen System anders als die  $\frac{1}{10}$  N. NaOH verhält und der Harn, obwohl neutral, seine Eigenhemmung deswegen weiter ausübt. Um diese Frage zu beantworten, unternahmen wir folgende Versuche: Ein und derselbe Harn von starken, eigenhemmenden Eigenschaften wurde unter Lackmusanwendung in einer Portion mit  $\frac{1}{10}$  N.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , in der anderen mit  $\frac{1}{10}$  N. NaOH neutralisiert. In ihrer Wirkung auf das hämolytische System verhielten sich beide Teile vollkommen gleich, d. h. sie ließen die Hämolyse glatt zustande kommen. Derselbe Harn, bei Lackmus neutralisiert, aber mit  $\frac{1}{N}$  NaOH, in der anderen Portion mit  $\frac{1}{N}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , verlor nur zum Teil seine eigenhemmenden Eigenschaften, was sich nur in den kleineren Dosen dokumentierte; die größeren, 0,8 und 1,0 ccm Harn verursachten komplette Hemmung. Ganz dieselben Resultate bekommt man beim Neutralisieren

des Harnes bei Phenolphthaleinanwendung. Hier muß aber folgendes bemerkt werden: Um einen und denselben Harn bei Lackmus zu neutralisieren, braucht man genau dieselbe Menge der  $\frac{1}{10}$  N. NaOH, wie der  $\frac{1}{10}$  N.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung, wogegen bei Phenolphthaleinanwendung dabei ungefähr 3mal mehr von der  $\frac{1}{10}$  N.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung verbraucht wird, als von der  $\frac{1}{10}$  N. NaOH. Um aber durch Zufügen ungleicher Mengen von Alkalien nicht mit ungleichen Harnverdünnungen zu arbeiten, wurden zu dem Harne nur so viel Kubikzentimeter der  $\frac{1}{10}$  N.- bzw. der  $\frac{1}{N}$ .  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung getan, als Kubikzentimeter der  $\frac{1}{10}$  N.- bzw.  $\frac{1}{N}$ . NaOH bei Phenolphthalein austitriert wurden. Dadurch war die mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  versetzte Portion des Harnes für Phenolphthalein noch sauer, aber für Lackmus schon längst alkalisch. Abermals wurden verschieden stark eigenhemmende Harne mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bzw. NaOH neutralisiert bei Lackmus- wie auch Phenolphthalein-Anwendung (bei der letzteren mit Einhaltung des beschriebenen Vorganges); in ihrer Wirkung auf das hämolytische System zeigten die neutralisierten Harne immer das gleiche Verhalten, d. h. die mit  $\frac{1}{10}$  N.-Lösungen neutralisierten Portionen gestatteten ein glattes Zustandekommen der Hämolyse, wogegen die mit  $\frac{1}{N}$ -Lösung neutralisierten nur in den kleineren Dosen nicht hemmend wirkten.

Aus dem Mitgeteilten ist ersichtlich, daß es nicht dasselbe ist, ob man einen Harn mit  $\frac{1}{10}$  N. oder  $\frac{1}{N}$ -Lösung neutralisiert, daß es aber keinen Unterschied macht, ob man NaOH oder  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  zum Neutralisieren verwendet. Diese Versuche machen es auch vollständig klar, warum der mit 10-proz.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung neutralisierte und zur Wassermannschen Reaktion angewandte Harn seine eigenhemmenden Eigenschaften nicht verloren hatte,

### Zusammenfassung.

Es wird ein Fall von positiver Wassermannscher Reaktion im Harne eines Kranken beschrieben, dessen Serum, abermals untersucht, dieselbe stark positiv zeigt. Histologische Untersuchungen scheinen für ein spezifisches Nierenleiden zu sprechen; die Globuline des Blutserums wirken stärker komplementablenkend, als die des Harnes und der Bauchhöhlenflüssigkeit desselben Kranken. Die bei der Ausführung der Wassermannschen Reaktion störende Eigenhemmung des Harnes läßt sich durch Neutralisation des Harnes nur teilweise beheben; um sie gänzlich auszuschalten, ist dazu noch ein gewisser Grad der Harnverdünnung notwendig. Inwiefern die physikalischen oder die chemischen Eigenschaften des Harnes bei der Eigenhemmung wirksam sind, wurde nicht näher untersucht.

### Literatur.

- Bauer, R., u. Hirsch, A., Wien. klin. Wochenschr. 1910. No. 1.  
— Ibidem. 1911. No. 42.  
— u. Hirsch, A., Ibidem. 1912. No. 4.  
Lange, K., Die Wassermannsche Reaktion. (Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorganismen.)  
Munk, F., Med. Klin. 1916. No. 39, 40, 41.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Verhütung von Laboratoriumsinfektionen.

Von k. und k. Regimentsarzt i. d. Res. Dr. Ferdinand Reinhardt,  
d. Z. Leiter eines bakteriologischen Feldlaboratoriums.

Mit 4 Figuren im Text.

Das Abmessen von Flüssigkeitsmengen in Bruchteilen eines Kubikzentimeters ist eine Aufgabe, die täglich hundertmal an den Bakteriologen und Serologen herantritt. Bis auf den heutigen Tag geschieht dies weitaus in den meisten Fällen immer noch mittels der gewöhnlichen Mundpipette. Es mußten sich die Bakteriologen natürlich von allem Anfang an darüber klar sein, daß diese Methode, besonders beim Aufsaugen von Bakterienaufschwemmungen, große Gefahren in sich birgt und es nur der Geschicklichkeit und Aufmerksamkeit des Untersuchers anheimfällt, die Flüssigkeit nicht in den Mund zu bekommen.

Kißkalt (1) hat auf Grund einer Rundfrage eine Zusammenstellung von Laboratoriumsinfektionen mit Typhus veröffentlicht, woraus zu entnehmen ist, daß von 57 Fällen die Hälfte — wie Paneth (2) annimmt — vielleicht noch mehr davon, dieser ursprünglichen Pipettiermethode zur Last fallen.

Selbstredend haben sich Aerzte und Konstrukteure bemüht, durch Erfindung von mechanischen Pipettiervorrichtungen das Saugen mit dem Munde zu umgehen.

Die einfachste Vorrichtung für diesen Zweck ist wohl das bekannte Augentropfröhrchen: Auf eine gewöhnliche Pipette stülpt man einen kleinen, schlanken Gummiballon, womit in bekannter Weise Flüssigkeit aufgesaugt und ausgeblasen werden kann. Paneth hat in der schon zitierten Zeitschrift neuerdings eine Lanze für diese Ballonpipette nach Wright (20) eingelegt und eine zweckmäßige Fingerhaltung hierfür angegeben.

Kitt (3, 4) erweitert oben die Pipette trichterartig und schließt sie durch Darüberbinden einer Gummimembran luftdicht ab. Durch Druck mit dem Zeigefinger auf diese Membran erzielt man in vielleicht bequemerer Weise dasselbe wie mit einem Gummiballon. Derselbe Autor (5) gibt noch eine besondere Form des Gummiballons an, der harmonikaartig gebildet und mit einem Ring für den Zeigefinger versehen ist, so daß der Ball in leichter Weise gestreckt und so die gewünschte Saugwirkung erzielt werden kann.

Neuerdings hat L. Neumayer (6) einen Ballonpipettensauger aus Gummi angegeben, der in 2 Größen für 1- und 10-ccm-Pipetten ausgeführt ist. Der Ballon besitzt ein versteiftes Ansatzrohr aus Gummi zum Anstecken der Pipette, das durch den ganzen Ballon geführt ist und im Innern besondere Zirkulationsöffnungen und Spülschlitze für leichte Desinfektion aufweist.

Eine Modifikation der Ballonpipette nach Permin (7) besteht darin, daß über das Pipettenrohr ein länglicher Gummiballon mit 2 entgegengesetzten Öffnungen geschoben ist, wobei also der oberste Teil der Glasröhre über den Ballon hinausragt. Durch eine kleine Öffnung in der Glasrohrwand kommuniziert der Hohlraum des Ballons mit dem Innenraum der Pipette. Drückt man den Ballon zusammen und schließt oben mit dem Zeigefinger ab, so wird beim Loslassen des Ballons Flüssigkeit in die Pipette aufsteigen. Beim Lüften des Zeigefingers fließt der Inhalt in gewünschter Menge ab. Der Vorteil dieser Ausführung liegt darin, daß der Abfluß der eingesaugten Flüssigkeit wie bei der Mundpipette durch Lüften des Zeigefingers ermöglicht ist.

Statt eines besonders geformten Ballons wird in der Praxis häufig genug bloß ein Gummischlauchstück, welches an einem Ende in irgendeiner Weise verschlossen ist, mit ähnlichem Erfolge verwendet.

Statt Gummisauger findet man in neuerer Zeit schon häufiger Metallsauger, bestehend aus einem an das Pipettenrohr angekitteten Zylinder, in welchem ein Kolben durch eine Spiralfeder nach dem Niederdrücken von selbst wieder nach oben geführt wird.

Mit Hilfe der angeführten Vorrichtungen ist man imstande, rasch, sogar rascher zu arbeiten als mit der Mundpipette, die Apparatur ist dabei höchst einfach, gestattet meist einhändige Bedienung, und wenn es sich darum handelt, wie z. B. bei Agglutinationen, eine Reihe von Röhrchen mit 1 oder  $\frac{1}{2}$  ccm einer Flüssigkeit zu füllen, ist auch bei Berücksichtigung eines etwa vorzeitig daneben abfallenden Tropfens die Genauigkeit immer noch hinreichend. Besteht jedoch die Aufgabe, über dem Blutkuchen etwa 0,1 oder gar bloß 0,05 ccm des Serums für Verdünnungen abzusaugen, so ist ein sicheres und genaues Abmessen dieser kleinen Mengen auch bei Aufmerksamkeit und Geübtheit nur schwer ausführbar, da bei den unvermeidbaren kleinen zitterigen Bewegungen der Finger die Flüssigkeit in der notwendig engen Pipettenröhre beständig auf- und ab tanzt, gelegentlich ausfließt und abtropft, namentlich dann, wenn die Kontrolle des Auges, z. B. beim Wegstellen des Gläschens, wegfällt. Dann heißt's von neuem pipettieren, wenn anders noch genug Serum da ist, oder nicht schon beim ersten Absaugeversuch die Blutkörperchen wieder aufgeschwemmt worden sind.

Manche Untersucher bevorzugen es zwar, mit dem Munde zu pipettieren, jedoch mit Dazwischenschaltung eines Gummischlauches mit Glasmundstück, welches man für die ganze Zeit des Pipettierens im Munde behält. Diese Arbeitsart gestattet ein rasches und recht sicheres Arbeiten unter Kontrolle des Auges, jedoch sollte man im bakteriologischen Laboratorium auf die Mithilfe des Mundes überhaupt verzichten können.

Ein solches Schlauchstück kann sogar die Grundlage werden für einen völligen Präzisionsauger, wenn man es, anstatt daran zu saugen oder dasselbe mit den Fingern zusammenzudrücken, zwischen zwei Rollen beliebig weit durchquetschen kann. Eine derartige Vorrichtung mit geeigneter Lagerung der Rollen, die mit dem Daumen leicht drehbar sind, und das Instrument somit einhändig bedient werden kann, ist besonders für Blutkörperchenpipetten von Maddox (8) beschrieben worden.

Ein einfacher Pipettensauger nach dem Prinzip der Strohscheinschen Spritze entsteht, wenn man über eine gewöhnliche Glaspipette eine möglichst enge Eprouvette schiebt und über den glatten Rand derselben ein kurzes Gummischlauchstück stülpt, welches den Eprouvettenrand etwas überragt und somit auch die Pipette, natürlich weniger kräftig, aber doch luftdicht umfaßt. Durch Auseinanderziehen der beiden Glas-teile kann begreiflicherweise durch die entstehende Luftverdünnung im Innern Flüssigkeit in das Pipettenrohr aufgesaugt werden. Eine solche Giftpipette nach A. Meyer (9) besitzt an der Kuppe des Außenglases eine Oeffnung, die beim Aufsaugen mit dem Finger verschlossen werden muß, dafür aber beim Lüften des Fingers ein beliebiges Abfließen des Inhalts gestattet, nach Wassermann (10) wird das Luftloch nicht oben an der Kuppe, sondern bequemer seitlich angebracht.

Nach denselben Grundsätzen ist auch die Saugpipette von Wolff (11) gebaut.

Beim Aufsaugen der Flüssigkeit mit solchen Vorrichtungen sind in der Regel beide Hände notwendig.

Eine große Gruppe von Vorrichtungen für den gedachten Zweck beruht im Prinzip darauf, daß in einem Spritzenzylinder ein luftdicht abschließender Kolben mittels einer Mikrometerschraube verstellt und somit ein Aufsteigen von Flüssigkeit in eine angesetzte Pipette bewirkt werden kann. Mit Recht heißen solche Vorrichtungen Präzisionsauger oder Mikropipetten, da sie ein genaues und sicheres Abmessen auch der kleinsten Flüssigkeitsmengen gestatten. Neben diesem Vorteile wird fast ausnahmslos als nachteilig empfunden, daß zum Aufsaugen und Ablassen der Flüssigkeit 2 Hände notwendig sind, die Linke zum Halten des Instruments, die Rechte zum Verstellen des Kolbens (Drehen der Schraube). Weiters nimmt die Auswechslung der Pipetten, die oftmals auch ganz bestimmte Form und Größe haben müssen und das oftmalige Herumdrehen der Schraube bei Mengen von etwa 1 ccm oft unliebsam viel Zeit in Anspruch. Dem letztgenannten Umstande hat schon vor Jahren die Firma Leitz Rechnung getragen und statt einer gewöhnlichen eine steile Schraube (Schneckengang) angewendet. Zweifellos sind die angeführten Mängel die Ursache gewesen, daß sich diese an sich guten Instrumente nicht einbürgern konnten. Mehrfach werden sie aber besonders für Blutkörperchenpipetten angewendet, z. B. der kleine Präzisionsauger nach Wieck. Hierher gehört auch die Improvisation von Brandt (12), welcher zum Verstellen des Kolbens einer Pravaz-Spritze alten Systems mit Hartgummimontierung das Schraubenscheibchen an der Kolbenstange benützt.

An dieser Stelle muß weiters des Präzisionssaugers von Hoerder (13) gedacht werden, der sich von den bekannten Konstruktionen besonders dadurch unterscheidet, daß die ganze Vorrichtung auf einem Stativ montiert ist, somit ein Halten mit der Hand wegfällt. Wie bei den vorhin angedeuteten Modellen, wird auch hier der Kolben mittels genau einstellbarer Mikrometerschraube bewegt, ein vollkommen luftdichter Abschluß des Kolbens aber in sinnreicher Weise mit Quecksilber erzielt. Die Kapillaren oder Pipetten werden mittels Gummischlauchstück angeschlossen. Der Autor hat den Sauger besonders für Bestimmung des opsonischen Index angegeben; für die gewöhnlichen Arbeiten mit größeren Flüssigkeitsmengen von etwa 1 ccm wird die Vorrichtung weniger brauchbar sein.

E. C. Miller (14) kommt mit seiner Konstruktion der praktischen Seite der Sache vielleicht am nächsten. Sie besteht aus einem niedrigen aber breiten Zylinder, der durch eine elastische Membran quer geteilt ist. Auf die Membran drückt ein Metallscheibchen, das seinerseits wieder mittels einer durch den Zylinderdeckel gehenden Schraube auf und ab bewegt werden kann. Nach unten wird der Zylinder durch einen Gummistopfen mit zentraler Bohrung abgeschlossen, in welche die Kapillaren gesteckt werden. Als wesentliche Neuerung geht seitlich von der Zylinderwand ein pistolengriffartiger Fortsatz ab, den man beim Gebrauche fest in der Hand hält, während der Daumen und eventuell noch der Zeigefinger zur Betätigung der erwähnten Schraube frei bleibt. Dieser Sauger wird also nur mit einer Hand bedient, gestattet ein sicheres Abmessen kleinster Flüssigkeitsmengen, und das Auswechseln der Pipetten geht rasch durch bloßes Einstecken vorstatten. Die Vorrichtung ist eine Mikropipette und gleichfalls speziell für Opsoninbestimmung erdacht. Das Abmessen größerer Flüssigkeitsmengen von etwa 1 ccm würde ein öfteres Herumdrehen der Schraube, somit unerwünschten Zeitverlust bedingen.

Um die Arbeitsgeschwindigkeit zu erhöhen, war es naheliegend, den Kolben nicht mittels Schraube, sondern unmittelbar zu verschieben. So besteht die Präzisionssaugvorrichtung nach Woithe (15) im wesentlichen aus einer 2 ccm-Metallspritze, deren Kolben unmittelbar mit dem Daumen bewegt wird. Zu diesem Zwecke trägt die Kolbenstange einen Ring für den Daumen, der Zylinder 2 seitliche Ringe für den Zeig- und Mittelfinger. Das freie Zylinderende setzt sich in ein Rohr fort, das U-förmig zurückgebogen ist und am Ende eine Klemmvorrichtung zum dichten Ansatz der Pipetten trägt. Vom Zylinder gehen weiters 2 Federgabeln ab, in welche die Pipette zur sicheren Lagerung eingeklemmt wird. Durch die entgegengesetzt gerichtete Lage der Pipette ist in sinnreicher Weise eine Verkürzung der ganzen Pipettier Vorrichtung und dadurch größere Handlichkeit bewirkt worden. Der Sauger wird einhändig bedient.

Der Pipettenwechsel erfordert jedoch mehrere Handgriffe: 1) Eindrücken der Pipette in die Federgabeln, 2) Einstecken in die Klemmvorrichtung, 3) Zuziehen einer Ueberwurfmutter; das Abnehmen der Pipette geschieht mit denselben Griffen in umgekehrter Folge. Die Art der Fingerhaltung erzeugt außerdem einen seitlichen Druck auf die Kolbenstange und dadurch Neigung des Kolbens zum Klemmen vielfach gerade im entscheidenden Augenblicke, wodurch die Zufriedenheit beim Arbeiten beeinträchtigt wird.

Der Sicherheitssauger nach Koch (16) besteht gleichfalls aus einem Zylinder mit luftdicht eingeschliffenem Metallkolben, der mittels eines aus einem Spalt des Zylinders herausragenden Knopfes nach Art eines Taschenbleistiftes verschoben werden kann. Das Instrument ist mit einer Hand zu bedienen. Die Pipetten werden mit einem Gummischlauchstück montiert und damit in die Fassung des Instruments eingesteckt, wozu aber die Pipetten passend am oberen Teil geformt sein müssen.

Recht sinnreich ist die Mikropipette von Weichardt (17), die besonders dazu dienen kann, bestimmte, kleine Flüssigkeitsmengen quantitativ genau, rasch und wiederholt abzumessen. Ein genau geeichtes Glasröhrchen, welches beiderseits verjüngt endigt, wird durch einen Gummistopfen, der den Abschluß eines Spritzenzylinders bildet, ganz durchgesteckt, so daß also das obere Ende des Röhrchens ein Stück frei in den Zylinderraum hineinragt. Ein Hochziehen des Spritzenstempels saugt das Röhrchen mit Flüssigkeit voll, ein Ueberschuß davon läuft in den Zylinderraum ab. Somit gehört die Vorrichtung in die Gruppe der Ueberlaufpipetten und bietet den Vorteil, daß der Kolbenhub nicht ängstlich genau dosiert zu werden braucht und doch beim Niederdrücken des Kolbens stets die genau gleiche Menge entleert wird. Bei entsprechender Ausführung könnte das Instrument einhändig bedient werden; erforderlich sind jedoch Spezialpipetten und Pipettenwechsel bei Aenderung der gewünschten Flüssigkeitsmenge.

Eine andere Pipettiermethode besteht im Wesen darin, die Pipette nach Art eines Stechhebers zu handhaben, d. h. man taucht sie bis zum gewünschten Teilstrich in die Flüssigkeit ein, verschließt oben mit dem Finger und hebt sie gefüllt heraus.



Um dabei bis auf geringe Reste die Flüssigkeit herausnehmen zu können, hat Reiner-Müller (18) ein „tulpenförmiges Pipettierglas“ angegeben, das Wagner (19) vor kurzem als Agglutinationstulpe oder -stulpe empfehlend in Erinnerung bringt. Es ist jedoch aufmerksam zu machen, daß bei dieser Arbeitsart die Pipette an der Außenfläche mit der Flüssigkeit benetzt ist; es fallen unmittelbar nach dem Herausheben in den ersten 5—10 Sekunden je nach der Größe der Pipette noch etwa 6—12 Tropfen von der Oberfläche ab. Man muß also diese Zeit abwarten, wenn man nicht will, daß auf dem Wege zum Reagenzglas der eine oder andere Tropfen der gegebenenfalls infektiösen Flüssigkeit irgendwohin abfällt. Sonst ist das Arbeiten in dieser Weise sehr bequem, und es gibt keine Schwierigkeit in der Pipettenwechslung. Was die Arbeitsgeschwindigkeit anbetrifft, wird diese Methode von recht vielen der vorhin angeführten Vorrichtungen übertroffen; auch ist sie zum Abpipettieren von Serum nicht geeignet. Nach der Mitteilung von Wagner wird im Kieler Institut das Abmessen der kleinen Serumengen in 1 ccm-Rekordspritzen vorgenommen, die für diesen Zweck mit extralangen Kanülen versehen sind und nach jedesmaliger Verwendung natürlich entsprechend gereinigt werden.

Im vorstehenden habe ich versucht, die bekannteren Pipettiervorrichtungen, soweit sie für bakteriologische Zwecke in Betracht kommen, kurz zu beschreiben und die Vor- und Nachteile derselben anzudeuten. Es kann sein, daß es außer den hier namentlich angeführten Vorrichtungen, die ich größtenteils aus eigener Anschauung kenne, noch die eine oder andere Modifikation gibt, die sich aber dann ohne Zweifel mühelos in eine der beschriebenen Gruppen würde einreihen lassen.

Wie man sieht, ist schon recht viel Erfindungsgeist für die Konstruktion eines allgemein brauchbaren Pipettensaugers aufgewendet worden mit dem Erfolge, daß auch in den ersten bakteriologischen Instituten die Mundpipette nach wie vor verwendet wird; höchstens daß sich der Saugball oder die eine oder andere Vorrichtung für besondere Zwecke in einzelnen Anstalten einen gewissen Anhängerkreis erwerben konnte.

Nachdem ich mich schon seit Jahren mit diesem Problem erfolglos beschäftigt habe, bin ich jetzt in der Lage, im Nachfolgenden einen Pipettensauger und eine Arbeitsweise damit anzugeben, die sich in fast 3-jähriger Praxis, besonders auch unter schwierigen Umständen im Felde, außerordentlich bewährt hat.

Die Vorrichtung (D.R.G.M.) besteht im allgemeinen aus einer Spritze, deren Kolben unmittelbar mit dem Zeigefinger gleichmäßig auf und ab bewegt werden kann, zu welchem Zwecke ein entsprechend justierter Kolben und ein geeigneter Fingerbügel an der Kolbenstange vorgesehen ist. Durch die Kolbenbewegung entsteht im Spritzenzylinder eine Luftverdünnung oder -verdichtung, wodurch in eine Pipette, die mittels eines Zwischenstückes luftdicht angeschlossen wird, Flüssigkeit eingesaugt und wieder ausgeblasen werden kann (Fig. 1).

Im besonderen ist in einen 3 ccm fassenden Zylinder aus Glas mit Teilung an der Außenseite ein langer, massiver Metallkolben fast luftdicht eingeschliffen. Die Kolbenstange ragt durch einen abschraubbaren Deckel und trägt am äußeren Ende auf einem Querstück einen passend geformten, umlegbaren Fingerbügel. Die Zapfen dieses Bügels ragen in entsprechende Zapfenlöcher des genannten Querstückes, so daß er nachgiebig um diese Zapfen verdreht werden kann, wobei aber die Reibung genügend groß ist, um ein Umlegen des Bügels unter Einwirkung des Eigengewichtes zu verhindern.

Der Kolben zeigt in der Mitte eine Ringnut, in welcher eine Klemmfeder liegt. Diese hat nicht etwa den Zweck, den Kolben abzudichten, sondern durch Reibung an der Zylinderwand den Kolben in jeder Stellung festzuhalten. Der Zylinder setzt sich in einen konischen Metall-



zapfen mit zentraler Bohrung fort, auf den ein Zwischenstück luftdicht aufgesteckt werden kann.

Das Zwischenstück besitzt ein Metallscheibchen zum bequemen An-  
fassen und endigt in ein dünnes Röhrchen (Fig. 2) oder eine Hohnadel,



Fig. 1  
( $\frac{1}{2}$  nat. Gr.)

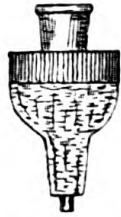


Fig. 2  
(nat. Gr.)



Fig. 3  
(nat. Gr.)



Fig. 4.

auf welcher ein passend zu-  
gerichteter Kork drehbar auf-  
gesteckt ist. Der Kork hat  
am oberen Teil denselben  
Durchmesser wie das Metall-  
scheibchen, der untere Teil ist  
entsprechend dünner und etwas  
konisch zugeschnitten, so daß  
die jeweils verwendete Pipette  
aufgesteckt werden kann.

Besonders für kleine,  
dünne Pipetten oder Kapil-  
laren ist ein anderes Zwischen-  
stück konstruiert (Fig. 3), das  
anstatt des Korkes ein Gummi-  
stück mit zentraler Bohrung  
trägt, in welches die Pipette  
eingesteckt wird. Diese Form  
des Zwischenstückes mit ver-  
schieden weiterer Bohrung im  
Gummistopfen kann für jede

Pipettenart in Verwendung kommen und hat den  
Vorteil, daß die Pipette äußerst nachgiebig mit  
dem Instrument verbunden ist, was manchem  
Untersucher erwünschter sein dürfte.

Vor Gebrauchnahme des Instruments ist es  
notwendig, dasselbe innen mit einem konsistenten  
Schmiermittel, am besten mit gelber Vaseline,  
zu fetten, wenn es nicht schon in diesem Zu-  
stande geliefert worden sein sollte. Dieses Fetten ist we-  
sentlich und bewirkt einerseits einen vollkommen luft-  
dichten Abschluß des Kolbens, andererseits aber werden  
dadurch die unwillkürlichen ruckartigen Bewegungen des  
Fingers ausgeglichen, die Bewegung des Kolbens wird ver-  
langsamt, gleichmäßig und weich. In diesem Zustand soll  
ein an den Fingerbügel gehängtes Gewicht von 70—100 g  
die Reibung der Klemmfeder gerade überwinden und den  
Kolben in etwa 16—20 Sekunden der ganzen Zylinderlänge  
nach niederziehen. Eine solche Justierung hat sich für  
flottes Arbeiten als die beste erwiesen.

Beim Gebrauche hält der Daumen einerseits, der Mittel-  
und Ringfinger andererseits das Instrument an der oberen,  
zu diesem Zwecke gekörnelten Metalleinfassung fest, während  
der Zeigefinger zur Betätigung des Kolbens mit der Spitze  
in den Fingerbügel gesteckt wird (Fig. 4). Dieser muß die richtige  
Größe und Form haben; das Gelenk des Nagelgliedes soll nicht ganz  
durchtreten können.

Nun ergreift man mit der Linken die Pipette am Zwischenstück,  
das vorteilhafterweise schon vorher an die Pipette gefügt worden ist,

und steckt es kurz drehend kräftig auf, wozu das Scheibchen des Zwischenstückes einen bequemen Angriff bietet. Hierauf wird noch, wenn nötig, die Teilung der Pipette ins rechte Licht gebracht, was in bequemer Weise dadurch ermöglicht ist, daß sich die Pipette mit dem Kork um die Hohnadel leicht drehen läßt. Bei Verwendung des Zwischenstückes zweiter Form mit Gummiansatz ist die Pipettenteilung schon beim Aufstecken zu berücksichtigen, doch läßt sich auch nachträglich noch das ganze Instrument um den Kolben mit Daumen und Mittelfinger der rechten Hand allein drehen.

Taucht man jetzt die Spitze der Pipette in eine Flüssigkeit und zieht mit dem Zeigefinger den Kolben hoch, so gelingt es überraschend leicht und sicher, die Flüssigkeit bis zum gewünschten Teilstrich aufzusaugen. Die Flüssigkeit bleibt unverrückt in der Pipette stehen und kann durch Abwärtsdrücken des Kolbens wieder ausgespritzt werden. Sollte Flüssigkeit von selbst abtropfen, so kann es sich nur um einen rissigen, undichten Kork handeln. Passende Korke aus einem möglichst homogenen Stück können von jedem halbwegs geschickten Menschen mit scharfen Messer und Sandpapier zugerichtet werden. Undichtes Anschließen der Zwischenstücke kommt kaum vor, kräftiges Aufreiben auf den Metallkonus würde übrigens leicht Abhilfe schaffen. Gegen das Abfallen der armierten Pipette vom Spritzenkonus schützt kräftiges, drehendes Aufstecken, eventuell mit Zuhilfenahme von Kreide.

Die beschriebene Konstruktion entspricht vollkommen den Anforderungen, die an eine zweckentsprechende Pipettiervorrichtung gestellt werden müssen, und weist im besonderen folgende Vorzüge auf:

- 1) Die Vorrichtung wird mit einer Hand bedient.
- 2) Die Handhabung ist bequem und völlig der gleich, die man beim gewöhnlichen Pipettieren gewöhnt ist.
- 3) Es können auch die kleinsten Flüssigkeitsmengen rasch, sicher und quantitativ genau unter Kontrolle des Auges aufgesaugt und ausgeblasen werden.
- 4) Die in die Pipette aufgesaugte Flüssigkeitssäule bleibt unverrückt stehen.
- 5) Das Auswechseln der Pipetten geschieht in der denkbar kürzesten Weise durch bloßes Aufstecken.
- 6) Es kann jede beliebige Pipette bis zu höchstens 2 ccm verwendet werden.
- 7) Im besonderen Falle kann auch ohne graduierte Pipette mit hinreichender Genauigkeit pipettiert werden.
- 8) Die Arbeitsgeschwindigkeit mit diesem Instrument übertrifft die sämtlicher anderer Methoden.
- 9) Im Falle einer Verschmutzung kann das Instrument leicht zerlegt und durch Auskochen keimfrei gemacht werden.
- 10) Die Konstruktion gibt infolge ihrer Einfachheit zu keinerlei Störungen Anlaß und ist bei sachgemäßer Behandlung unbegrenzt dauerhaft.

Bezüglich der Pipetten möge folgendes beachtet werden: Grundsätzlich kann mit diesem Sauger jede Pipette bis zu höchstens 2 ccm verwendet werden, sobald man nur ein darauf passendes Zwischenstück zur Hand hat, bzw. ein solches anpaßt. Doch ist dringend zu empfehlen, möglichst kurze (bis zu 17 cm) und leichte zu bevorzugen, mit denen das Arbeiten bequemer und auch gefälliger wird. Die häufig gebrauchten

Mundpipetten zu 1 ccm aus dickem Glasrohr von 30 cm Länge sind wegen ihrer Größe und Schwere weniger geeignet.

Im Notfalle, oder in Fällen, wo es auf peinlichste Genauigkeit nicht ankommt, kann mit Hilfe der beschriebenen Vorrichtung auch mit jedem beliebigen aufgesteckten Glasröhrchen hinreichend genau pipettiert werden, indem die Teilstriche am Glaszylinder des Instruments abgelesen werden, die für diesen Zweck vorgesehen sind. Diese Methode wird sich besonders eignen zum Abmessen von Farbstofflösungen, Herausheben von Sedimenten aus tiefen Gefäßen, Absaugen von infektiösem Reizserum aus Versuchstieren usw.

Um mit dieser Pipettiervorrichtung die höchste Arbeitsgeschwindigkeit zu erreichen, ist es notwendig, an der Hand von Beispielen die Arbeitsweise genauer zu schildern und auf einzelne Kunstgriffe hinzuweisen.

Es bestünde z. B. die Aufgabe, mit einer Reihe von Blutproben die Gruber-Widalsche Reaktion auf Typhus in den Serumverdünnungen 1:50, 1:100, 1:200 usf. anzustellen.

Man stellt sich zunächst für jede Blutprobe eine Reihe von Agglutinationsröhrchen zurecht und armiert zwei 1 ccm-Pipetten und eine  $\frac{1}{2}$  ccm-Serumpipette mit den passenden Zwischenstücken. Mit einer der ersteren mißt man in das erste Röhrchen jeder Reihe 0,96 ccm NaCl (-Kochsalzlösung) ein, in die folgenden je 0,5 davon.

Für das nun folgende Abpipettieren des Serums über dem Blutkuchen empfiehlt es sich, eine recht dünne  $\frac{1}{2}$  ccm-Serumpipette zu nehmen, bei welcher die Teilstriche zu  $\frac{1}{100}$  ccm natürlich doppelt so weit auseinanderliegen, als bei der 1 ccm-Pipette gleicher Länge, somit ein genaueres Abmessen gestatten.

Damit saugt man 0,04 ccm Serum genau ab und überbringt es in das erste Röhrchen. Trotzdem man in der Rechten das Pipettierinstrument hält und betätigt, ist es noch möglich, mit dem Ring- und Kleinfinger dieser Hand den Stöpsel vom Blutprobenröhrchen abzunehmen, zu halten und wieder aufzusetzen. Durch angetrocknetes Blut festhaltende Stöpsel sind vorher zu lockern.

Um das Serum aus der Pipette vollkommen entleeren zu können, ist es notwendig, vor dem Abpipettieren den Kolben immer um einiges hochzuziehen, so daß stets ein Luftvolumen zur Verfügung steht, womit die Pipette nach Entleerung des Inhalts hinterdrein noch ausgeblasen werden kann.

Mit nachfolgenden 2—3 kurzen Kolbenzügen, wobei die Pipettenspitze in der Flüssigkeit nahe der Oberfläche bleibt, wird ein genügendes Mischen erzielt, wie das Verschwinden der Schlieren erkennen läßt. Dabei ist nur die eine Vorsicht am Platze, die Mischung über die Pipette hinaus nicht in das Instrument selbst hineinzubekommen.

Von dem ersten Röhrchen, welches also eine Serumverdünnung 1:25 enthält, überträgt man 0,5 in das zweite, mischt, bringt von hier 0,5 ccm in das dritte usf., die Hälfte vom letzten wird weggespritzt.

Hierauf wird die Pipette durchgespült, indem sie aus einem bereitstehenden, niedrigen Gefäße mit Kochsalzlösung oder Wasser 1- bis 2mal vollgesaugt und wieder ausgespritzt wird.

Es sammelt sich jetzt in der Spitze, einige Teilstriche hoch, Spülflüssigkeit an, die vor der neuen Serumabmessung entfernt werden muß. Zu diesem Zwecke setzt man die Pipette samt dem Zwischenstück ab und stellt sie mit der Spitze auf einen schwach feuchten Sublimatbausch

— vorteilhaft auf einer Petri-Schale ausgebreitet —, welcher sofort die Spitze reinsaugt. Unterdessen zieht man im Instrument den Kolben etwas hoch, um wieder einen Luftvorrat zum Ausblasen zu haben, setzt die Pipette wieder an und beginnt mit der zweiten Blutprobe, in gleicher Weise die Verdünnungen herzustellen. Unmittelbar vor Eingehen in das Serum wird die inzwischen neuerdings angesammelte Flüssigkeit in der Kapillarspitze im Betrage von etwa 0,005 ccm wieder durch Auf-tupfen auf den Bausch und geringes Ausblasen zu entfernen sein.

Es wird also — vielleicht *horribile dictu* — zur Herstellung der Serumverdünnungen aller Proben ein und dieselbe Serumpipette verwendet. Es sei jedoch daran erinnert, daß die Blutproben selbst sehr häufig nicht steril sind, daß bei Agglutinationsproben absolute Sterilität auch nicht notwendig ist — es können sogar in faulem Blut die Agglutinine noch nachgewiesen werden —, daß weiter vielfach karbolisierte Aufschwemmungen benützt werden, die Wachstumshemmungen etwa eingebrachter Keime bedingen, und daß schließlich die Gefahr, es könnten Agglutinine von einem Serum in das folgende in nachweisbarer Menge übertragen werden, bei der geschil-derten Methode in Wirklichkeit nicht besteht, auch dann nicht, wenn auf ein Serum mit hohem Titer ein ganz negatives folgt.

Angenommen, wir gingen auch ohne zu spülen schon von einem Röhrchen, welches z. B. eine Verdünnung von 1:200 enthält, in das nächste Serum ein, und es wäre in der Pipette ein Rest bis zum ersten Teilstrich = 0,01 ccm zurückgeblieben, den wir auch nicht entfernen wollten, so verdünnt sich dieser Rest im folgenden 1 ccm hundertfach, somit ergibt sich jetzt eine Verdünnung von  $1:200 \times 100$  und, mit gleicher Menge Keimaufschwemmung versetzt, eine endgültige Verdünnung von 1:40 000, die bereits über den Titer sogar der meisten Testseren hinausgeht.

Sind in den Röhrchen die Serumverdünnungen hergestellt und spritzt man mit der dritten Pipette in jedes noch 0,5 der Bakterienaufschwemmung — wobei schon von selbst eine ausreichende Mischung entsteht, so ergeben sich die gewünschten Verdünnungen 1:50, 1:100, 1:200 usw.

Beim Einfüllen der Kochsalzlösung und der Bakterienaufschwemmung werden die Röhrchen vorteilhaft in ihrem Gestell belassen; beim Herstellen der Serumverdünnungen jedoch muß jedes Röhrchen begreiflicherweise in die linke Hand genommen werden.

Erinnert sei nochmals, daß während der Arbeit die Pipetten immer samt dem Zwischenstück an- und abzusetzen sind, wodurch an Zeit gewonnen, der Kork bzw. der Gummi geschont wird, der Metallkonus hingegen praktisch darunter nicht leidet.

Folgende Tabelle soll nun die Fehlergrößen bei ungenauem Arbeiten erkennen lassen.

Ausgangsverdünnung			Erzielte Endverdünnungen					Fehler %
0,04	Serum + 0,96 NaCl	= 1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	0%
0,03	Serum } + 0,96 NaCl	= 1:33	1:66	1:132	1:264	1:528	1:1056	+ 32%
0,05		= 1:20,2	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	— 20 „
0,035		= 1:28,5	1:57	1:114	1:228	1:456	1:912	+ 14 „
0,045		= 1:22,3	1:44	1:88	1:176	1:352	1:704	— 10 „
0,04	„	+ 0,95 „ = 1:24,75	1:49,5	1:99	1:198	1:396	1:792	— 1 „
0,04	„	+ 0,97 „ = 1:25,25	1:50,4	1:101	1:202	1:404	1:808	+ 0,8 „

Daraus ist zu erschen, daß beim Abpipettieren des Serums ein Zuviel oder ein Zuwenig von  $\frac{1}{2}$  Teilstrich = 0,005 bereits einen Fehler von mehr als  $\pm 10$  Proz. ausmacht, während beim Abmessen der Kochsalzlösung eine Ungenauigkeit im Betrage von 1 Teilstrich nur einen Fehler von  $\pm 1$  Proz. zur Folge hat. Der Fehler wird um so größer, je weniger Serum zur Verwendung kommt. Wer sich daher nicht zumutet, jedesmal mit Sicherheit 0,04 des Serums abmessen zu können, nehme mit 1,92 NaCl

und 0,08 Serum die doppelte Menge der Verdünnung oder schalte ein Hilfsröhrchen etwa 1:5 vor.

Sollen 10 Blutproben in der geschilderten Weise verarbeitet und für jede Probe 10 Verdünnungen, im ganzen also 100 Röhrchen, genommen werden, so ist die gesamte Arbeit: Einfüllen der Kochsalzlösung, Herstellen der Serumverdünnungen und Auffüllen mit Bakterienaufschwemmung in 22 Minuten zu bewältigen, das ist eine Geschwindigkeit, die bei derselben Genauigkeit von keiner anderen Pipettiermethode erreicht wird.

Das Vorstehende sollte vornehmlich die typische Arbeitsweise mit dieser Pipettiervorrichtung erläutert haben. Bei Massenuntersuchungen aber, besonders zu Zeiten verschieden typhöser Erkrankungen, hat sich uns zur vorläufigen Orientierung z. B. folgende Agglutinationsreihe sehr bewährt: Für Typhus und Paratyphus B, als die am häufigsten agglutinierten Stämmen, die Verdünnungen 1:50 und 1:100; für Paratyphus A und für einen zeitlich und örtlich gerade in Betracht kommenden Stamm z. B. Weil-Felixschen *Proteus* für Fleckfieberdiagnose, die Verdünnung 1:50. Für diagnostische Verwertung unter einer Verdünnung 1:50 anzufangen, ist zwecklos.

Für jede Blutprobe werden also, entsprechend der Lochzahl in den üblichen Agglutinationsgestellen, 6 Röhrchen benötigt. Gemeint sind die gewöhnlichen Agglutinationsröhrchen von 60 mm Länge, 10 mm Dicke mit einem größten Inhalt von 3 ccm.

Man stellt sich zunächst mit 2,4 ccm NaCl und 0,1 Serum eine Verdünnung von 1:25 im ersten Röhrchen her und verteilt davon je  $\frac{1}{2}$  ccm für Paratyphus A, Paratyphus B und x in das bestimmte Röhrchen zur Verdünnung 1:50,  $\frac{1}{2}$  ccm bleibt im ersten Röhrchen für Typhus 1:50 zurück, während der letzte halbe Kubikzentimeter im zweiten Röhrchen mit einem schon vorher eingefüllten  $\frac{1}{2}$  ccm NaCl vermischt und diese Verdünnung für Typhus und Paratyphus B 1:100 halbiert wird. Somit befindet sich in jedem der 6 Röhrchen  $\frac{1}{2}$  ccm der Serumverdünnungen, die, mit der gleichen Menge der betreffenden Bakterienaufschwemmung versetzt, die vorgezeichneten Endverdünnungen ergeben. 10 Blutproben können in 20 Minuten in dieser Weise verarbeitet werden. Beim positiven Ausfall dieser orientierenden Reihe, die in der Praxis häufig genug schon die Endtiter erkennen läßt, werden die Verdünnungen für den einen oder anderen Stamm bis zum Endtiter weitergetrieben.

Durchaus nicht unangebracht scheint es mir zu sein, an dieser Stelle der Meßröhrchen selbst kurz zu gedenken. Die Pipetten, welche zur Abmessung des Serums in Frage kommen, müssen bekanntlich auf „Einguß“ geeicht sein, d. h. das von der Spitze bis zum I. Teilstrich eingesaugte Serum beträgt wirklich 0,01 ccm; beim Entleeren gehört also der an den Innenwänden haftende Rest noch dazu, der aber auch beim Mischen mit Kochsalzlösung noch mitverwendet wird. Die Pipetten zum Einfüllen der Kochsalzlösung etc. sollen hingegen auf „Ausguß“ geeicht sein, d. h. nicht die in die Pipette eingesaugte, sondern die entleerte Flüssigkeit soll genau die gewünschte Menge betragen. Außerlich erkennt man die Serumpipetten auch daran, daß die Bezifferung der Teilstriche von der Spitze nach aufwärts fortschreitet, bei den Ausgußpipetten natürlich umgekehrt. Serum in eine Ausgußpipette von der Spitze bis zum ersten Teilstrich, der mit 0,9 bezeichnet ist, eingesaugt, beträgt nicht 0,1 ccm, sondern etwa 0,15, weil der Raum in der Spitze nicht in die Graduierung miteinbezogen ist. Somit entsteht schon durch die unrichtige Wahl oder den unrichtigen Gebrauch der Pipette ein Fehler von etwa 30 Proz., was tatsächlich vielfach übersehen wird. Manche Schwankungen im Titer sind daher neben anderen Umständen vielleicht auch auf ungenaues Pipettieren zurückzuführen.

Neben diesen genauer beschriebenen Aufgaben, die vielleicht am häufigsten vorkommen mögen, kann die Vorrichtung natürlich überall

dort mit demselben Vorteil angewendet werden, wo es darauf ankommt, Flüssigkeitsmengen bis zu etwa 1 ccm genau, oftmals und rasch abzumessen.

Namentlich muß aber darauf hingewiesen werden, daß es damit ermöglicht ist, das gefährliche Pipettieren mit dem Munde aus den bakteriologischen und serologischen Laboratorien zu verbannen, ohne dafür Zeitverlust, Ungenauigkeit oder Unbequemlichkeit eintauschen zu müssen.

#### Literatur.

- 1) Kißkalt, K., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 80. 1915.
- 2) Paneth, Med. Klin. 1915. No. 51.
- 3) u. 4) Kitt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909 u. Bd. 52. 1909.
- 5) — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913.
- 6) Neumayer, L., Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 3.
- 7) Permin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57. 1911.
- 8) Maddox, R. D., Journ. of the Amer. Med. Assoc. 1913.
- 9) u. 10) in Heim, Lehrb. d. Bakt.
- 11) Wolff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908.
- 12) Brandt, München. med. Wochenschr. 1917. No. 19.
- 13) Hoerder, Ebenda. 1909.
- 14) Miller, E. C., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 46. 1908.
- 15) Woithe, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 28. 1908. Heft 2.
- 16) Koch, München. med. Wochenschr. 1910. No. 25.
- 17) Weichardt, in Heim, Lehrb. d. Bakt.
- 18) Müller, R., u. Gräf, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907.
- 19) Wagner, Med. Klin. 1916. No. 13.
- 20) Wright, A. E., Jena 1914.

Bezugsquelle: Firma Paul Altmann, Berlin NW. 6.

(G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber ein eigenartiges Drüsenorgan bei Ophiotänien.

Von Dr. **Eduard Rudin**,

Assistent am Zoologischen Institut der Universität Genf.

Mit 1 Figur im Text.

Ich möchte im folgenden in Kürze eine eigentümliche Beobachtung mitteilen, die ich bei der Untersuchung von brasilianischem Cestodenmaterial aus dem Berliner Museum machte. Es handelt sich um zwei Ophiotänien (*O. hyalina* und *O. flava*) aus einer nicht näher bestimmten, von Sello und von Olfers gesammelten Colubride. Bei diesen beiden Formen fand sich in der apikalen Partie des Scolex eine Anzahl Zellen drüsiger Natur, die offenbar an der Befestigung des Parasiten an der Darmwand beteiligt sind.

Die Zellen haben zum Teil eine runde, zum Teil auch eine elliptische Gestalt. Einzelne sind spindelförmig in die Länge gezogen. Die runden haben einen Durchmesser bis zu 15  $\mu$ , die anderen eine Länge von bisweilen 30  $\mu$ . Sie liegen oft tief im Innern des Scheitels, hin und wieder sogar zwischen den Saugnäpfen. Jede dieser Zellen geht am Ende in einen feinen Ausführungsgang über, der in mehr oder weniger gestrecktem Verlauf die Cuticula erreicht und sie durchsetzt. In einzelnen Fällen liegt die Ausmündung oben auf einer kleinen, papillenähnlichen Erhebung der Cuticula. Die Kerne dieser Zellen sind

Erste Abt. Orig. Bd. 80.

Heft 7.

30

oval bis kreisrund und haben einen Durchmesser von 2—3  $\mu$ . Das Plasma ist manchmal stark vakuolisiert. Die Zellen färben sich sehr kräftig mit Eosin und mit Bleu de Lyon, viel stärker als die übrigen Gewebe. Infolgedessen fallen sie sowohl auf Schnitten, als auch an entsprechend behandelten Totalpräparaten ohne weiteres auf.

Das Vorhandensein von Ausführungskanälen sowie die Affinität zu Eosin lassen vermuten, daß diese Zellen Drüsenorgane darstellen. Ihre Lage im Scheitel des Scolex weist ferner darauf hin, daß sie jedenfalls in irgendeinem Zusammenhang stehen mit der Befestigung des Parasiten in der Darmwand des Wirtes.

Da neben einer großen Zahl von Individuen auch ein Stück des Darmes mitkonserviert war, an dessen Innenseite noch eine Anzahl Cestoden hafteten, war es möglich, auch einige solche in situ zu schneiden, in der Erwartung, dadurch zu Anhaltspunkten zu gelangen, die geeignet wären, über die Funktion dieser Drüsen Aufschluß zu geben. Leider hat sich aber diese Hoffnung nur in beschränktem Maße erfüllt.



Fig. 1. *Ophiotaenia hyalina*. — Drüsenzellen im Scolexscheitel. Längsschnitt,  $\times 1143$ .

Es zeigten sich zunächst einige sehr schöne Beispiele für die Befestigung der Saugnäpfe an der Darmwand. Sie boten ähnliche Bilder dar, wie sie aus der Literatur verschiedentlich bekannt sind. Dagegen waren Anzeichen, die Licht in die Frage nach der Funktion der Scheiteldrüsen gebracht hätten, nur spärlich vorhanden, und unter diesen vielleicht keine unbedingt gültigen. Zunächst fanden sich Stellen, wo zwischen dem Scheitel und den benachbarten Teilen der Darmoberfläche die Schleimhaut fehlte. Infolgedessen steht der Scolex in direkter Berührung mit der Muscularis mucosae. Nun sagt aber Lühe (Verhandl. d. 5. int. Zool.-Kongr. Berlin 1901), daß unter der Einwirkung mancher Parasiten das

Epithel des Darmes verloren geht. Es kann sich also um eine allgemeine, mit dem bloßen Vorhandensein des Cestoden in Zusammenhang stehende Erscheinung handeln, so daß es nicht angeht, die Drüsen dafür verantwortlich zu machen. Auch eine andere Erklärung wäre noch denkbar: eine nähere Betrachtung der Epithelpfropfen im Innern der Saugnäpfe zeigt, daß sich die Wirkung der letzteren in weitem Umkreis bemerkbar macht, so daß in diesen Zapfen manchmal Epithelzellen sind, die ursprünglich sehr weit von dem Saugnapf entfernt waren. Es ist also sehr wohl möglich, daß das Epithel durch die Saugnäpfe vor dem Scheitel weggezogen wurde.

Beweiskräftiger sind andere Schnitte, bei denen der Zwischenraum zwischen der Cuticula des Scolex und der Darmoberfläche von einer strukturlosen, allem Anschein nach schleimigen Masse erfüllt ist. Diese kann sehr gut so aufgefaßt werden, als ob sie unter dem Einfluß der Drüsenzellen entstanden wäre. Dafür spricht auch der Umstand, daß diese Substanz an der übrigen Körperoberfläche fehlt. Unter diesen Schnitten sind sowohl solche, auf denen vor dem Scheitel das Darmepithel noch vorhanden ist, als auch solche, auf denen es fehlt.

Am meisten scheint es zugunsten unserer Annahme zu sprechen, wenn sich feststellen läßt, daß die Oberfläche des Darmepithels tatsächlich innig mit der Cuticula des Scolex verklebt ist. Dies kann man



dann erkennen, wenn, wie dies oft der Fall ist, der Scolex sich bei der im Augenblick der Konservierung eintretenden Kontraktion von der Oberfläche des Darmes loslöst. Klebt nun diese Oberfläche an der Cuticula, so tritt diese Loslösung nicht ein; vielmehr bleibt die Cuticula des Darmes am Scolex haften und wird dabei selbst vom Zellkörper des Epithels losgerissen. Dieses Losreißen tritt dann oft auf weite Strecken ein, wobei sich dann der Einfluß der Drüsen besonders darin äußert, daß die Darmcuticula nur im Bereiche der Ausmündungen der Scolexdrüsen mit dem Scolex in Verbindung bleibt, nicht aber an den zwischen dem Scheitel und den Saugnäpfen gelegenen Fällern der Oberfläche, wo eben die Drüsen fehlen. In wenigen Teilen kam es auch vor, daß das Umgekehrte eintrat, daß also der ganze Scheitelteil am Darm haften blieb und aus dem Scolex herausgerissen wurde.

Daß aber doch von den Drüsen in irgendeiner Weise ein Einfluß auf die Schleimhaut des Darmes ausgeübt wird, geht daraus hervor, daß die Kerne des Darmepithels nicht selten in der Umgebung solcher Drüsen eine anormale Beschaffenheit zeigen. Sie sind kleiner als die normalen Kerne, nicht mehr so schön bläschenförmig, und speichern sehr intensiv Karmin, so daß sie oft einfach als dunkelrote Flecke erscheinen.

Betrachten wir alle diese Einzelbeobachtungen zusammen, so scheint sich meines Erachtens doch die ungezwungene Annahme zu ergeben, daß die fraglichen Drüsen bei der Befestigung des Scolex am Darms des Wirtes in irgendeiner Weise beteiligt sind. Die Vermutung, daß sie klebend wirken, liegt dann auch nicht mehr fern. Offen bleiben muß freilich die Frage, ob ihr Sekret selbst solche Eigenschaften besitzt, oder ob erst unter ihrem Einfluß aus der Substanz des Darmepithels ein Klebstoff entsteht.

Ich bedaure es sehr, daß der für histologische Untersuchungen schlechte Erhaltungszustand des sehr alten Materials kein gründlicheres Studium dieser Frage gestattet. Infolgedessen sind die obigen Angaben recht dürftig. Immerhin glaubte ich, diese Beobachtungen mitteilen zu sollen, da vielleicht nicht so bald wieder ähnliches Material vorliegt, und es sich andererseits möglicherweise um etwas Neues handelt. Soweit ich mich davon überzeugen konnte, ist in der Literatur noch nichts dieser Art beschrieben worden. Es sind vielfach Fälle einer mechanischen Verletzung des Darmes bekannt; auch Studien über eine allgemeine giftige Wirkung von Parasitensekreten auf den Wirt sind gemacht worden. Dagegen scheinen aber bis jetzt Angaben über eine chemische Beeinflussung der Darmwand zum Zwecke einer besseren Befestigung des Parasiten zu fehlen, wenigstens habe ich in der mir zugänglichen Literatur nichts derartiges finden können.

Genf, den 20. Dezember 1917.

(G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Nematodenzüchtung auf Agarplatten.

Von  
und

Prof. Dr. Hilgermann,  
Stabsarzt d. Res., Direktor des Königl.  
Instituts für Hygiene und Infektions-  
krankheiten, Saarbrücken.

Dr. Richard Weissenberg,  
Feldarzt, Privatdozent an der  
Universität Berlin.

Eine sehr geeignete Methode, saprophytische Amöben zu kultivieren, besteht bekanntlich darin, daß man zerfallende Pflanzenteile, wie Blätter

30\*



oder Wurzeln aus der Erde oder Stückchen von Wasserpflanzen auf eine Agarplatte bringt. Es breitet sich dann bald ein üppiger Bakterienrasen aus, und gleichzeitig kommt es zur Weiterentwicklung von Amöben, die sich auf den Pflanzenteilen befunden haben. Sie finden in den Bakterien eine geeignete Nahrung und nehmen rasch an Zahl zu, so daß sie bald die ganze Platte überziehen. Mit ihren Nahrungsbakterien zusammen lassen sich die Amöben ohne Schwierigkeit von einer Agarplatte auf die andere überimpfen.

Im Frühjahr 1917 in der Hygien. Untersuchungsstelle des Gen.-Gouv. Warschau angestellte Versuche ergaben, daß sich unter entsprechenden Bedingungen auch saprophytische Nematoden züchten lassen, die sich in abgestorbenen Blättern oder Erde finden. Man braucht nur etwas Material von Blattstückchen, Stengeln oder Wurzeln auf eine Amöben-Agarplatte zu bringen, um nach einer Reihe von Tagen feststellen zu können, daß sich auf der Platte nicht nur Bakterien und Amöben entwickelt haben, sondern zwischen ihnen auch kleine Nematoden herumkriechen. Die weitere Beobachtung zeigt, daß die auf der feuchten Platte zum Leben erweckten Würmer sich in normaler Weise weiterentwickeln. Sie nehmen an Größe zu. Die Geschlechtsorgane reifen. Bald kann man die mehrere Eier im Uterus bergenden Weibchen deutlich von den kleineren, mit Spicula ausgestatteten Männchen unterscheiden. Abgelegte Eier sind mit jedem Tage zahlreicher zu finden. Schon nach kurzer Zeit schlüpfen junge Tiere aus, die wieder ihrerseits heranreifen, und bald bedeckt ein buntes Gewimmel munter herumkriechender Würmer aller Altersstadien die Platten.

Aus verschiedenem Ausgangsmaterial ließen sich verschiedene Arten von Nematoden züchten, die sich schon bei grober Untersuchung durch ihre Dimensionen, durch die mehr oder weniger spitze Beschaffenheit des Schwanzes oder durch die Art ihrer Fortpflanzung (Ablage ungeführter oder weit entwickelter Eier oder Geburt lebender Jungen) unterscheiden ließen. Teils handelte es sich um wenige Millimeter große, mit unbewaffneter Mundhöhle und Oesophagealbulbus ausgestattete Anguilluliden, deren genauere systematische Bestimmung noch nicht möglich war, teils um zu der Gattung *Diplogaster* gehörige Arten.

Haben sich verschiedene Sorten aus den Pflanzenteilen der gleichen Platte entwickelt, so kann durch Uebertragen eines befruchteten Weibchens auf eine neue Platte eine Reinkultur erzielt werden.

Wie eine Durchsicht der Nematodenliteratur ergab, ist die leichte Züchtbarkeit von Erdnematoden schon lange bekannt. So empfahl bereits Schneider<sup>1)</sup> in seiner Monographie 1866, auf befeuchtete Erde Stücke faulender tierischer Substanz zu legen, um eine Anreicherung von Erdnematoden zu erzielen. Von neueren Autoren hat namentlich Potts<sup>2)</sup> 1910 zur Züchtung saprophytischer Nematoden verschiedene flüssige Kulturmedien verwandt, so Heuinfusionen, Gelatinelösung, Leucin- und Tyrosinlösungen, und die besten Resultate mit von Fäulnisbakterien durchgesetzter Peptonlösung erreicht. Eva Krüger<sup>3)</sup> züchtete 1913 *Rhabditis aberrans* in Tropfen faulenden Fleischsaftes.

Stets scheinen nur flüssige Kulturmedien angewandt worden zu

1) Schneider, A., Monographie der Nematoden. Berlin 1866.

2) Potts, E. A. Notes on the free-living Nematodes. Part 1. (Quarterly Journal of microscopical Science. Vol. 55. 1910.)

3) Krüger, E., Fortpflanzung und Keimzellenbildung von *Rhabditis aberrans*. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 105. 1913.)

sein. Diesen Methoden gegenüber bietet die Verwendung des festen Agarnährbodens eine Reihe von Vorteilen, da er ein sehr sauberes und bequemes Arbeiten ermöglicht.

Die Agarplatten eignen sich ohne weiteres zur Lebendbeobachtung der Würmer mit schwachen Vergrößerungen. Für die Untersuchung mit stärkeren Linsen empfiehlt es sich, etwas Agarmasse mit Würmern herauszustechen, auf einen Objektträger unter ein Deckglas zu bringen und das Agarklumpchen durch leichten Druck auf das Deckglas flach auszubreiten. Die Furchung der Eier z. B. läßt sich auf diese Weise vorzüglich verfolgen. Für Konservierung, Färbung, Anfertigung von Totalpräparaten oder Einbettung ist es sehr bequem, mit Hilfe des Agars eine große Menge der kleinen Würmer auf einmal zusammen verarbeiten zu können. Wenn man nämlich aus einer reich besetzten Agarplatte ein Stückchen Agar ausschneidet und in die Fixationsflüssigkeit fallen läßt, so bleibt der größte Teil der Würmer in der Agarmasse haften. Die konservierten Agarstückchen bewahren ihre Durchsichtigkeit und eignen sich auch zur Stückfärbung, z. B. mit Hämalun, das den Agar nur wenig, die eingeschlossenen Würmer dagegen intensiv färbt. Mit leichter Mühe lassen sich auf diese Weise Glycerin-Totalpräparate anfertigen. Andererseits können die Agarstückchen entwässert und in Paraffin eingebettet und von ihnen dünne Schnitte hergestellt werden, die sich in der üblichen Weise aufkleben und färben lassen.

Die Methode der Züchtung saprophytischer Nematoden auf Agarplatten dürfte einmal für den Systematiker von Wert sein, mit ihr wird nicht nur die Verbreitung verschiedener Sorten leicht festgestellt, sondern auch für die einzelnen Arten die Gestalt der Jugendformen, Eier und der Bau der selteneren Männchen ermittelt. Auch dem Biologen dürfte sie für das Studium von Variationen und Vererbungsfragen bei der leichten Beobachtungsmöglichkeit zahlreicher Generationen willkommen sein. Daß die Entwicklung und Histologie der kleinen Würmer sich an Agarpräparaten gut studieren läßt, wurde bereits gesagt.

Naturngemäß lag die Frage nahe, inwieweit sich die bei saprophytischen Nematoden erhaltenen guten Züchtungsergebnisse verallgemeinern lassen, insbesondere ob auch die Plattenkultur parasitischer Formen möglich ist. Können z. B. lebende Pflanzen bewohnende Würmer nicht in ähnlicher Weise kultiviert werden, wie die in modernen Pflanzenteilen wohnenden Nematoden? Diese Frage ist für *Heterodera schachtii* und *Tylenchus scandens*, die Erreger der Rüben- und Weizenmüdigkeit, von uns bereits in Angriff genommen worden. Bei der volkswirtschaftlich hohen Bedeutung dieser Pflanzenparasiten würde die Plattenkultur hier von besonderer Wichtigkeit sein, da damit vielleicht eine Handhabe für Versuche mit Gegenmitteln gegeben wäre.

Was die Uebertragung des Agarkulturverfahrens auf die Züchtung tierischer Parasiten anbetrifft, so erweisen sich Formen aus Warmblütern naturgemäß als besonders empfindlich. Bei der Trichine ist es uns bisher zwar gelungen, junge, aus der Muskulatur befreite Muskeltrichinen bis zu 9 Tagen auf Agarplatten mit Serumzusatz im Brutofen beweglich zu erhalten, doch wurde Wachstum oder Reifung der Tiere bisher nicht festgestellt. Weit günstiger liegen die Verhältnisse bei Kaltblüterparasiten, was an 2 Beispielen gezeigt sei:

Weibchen von *Nematosis ornatus*, einem kleinen, im Dickdarm von Frosch und Kröte lebenden Nematoden, kriechen auf Agarplatten, die mit Frosch-Coli-Bazillen beimpft sind, munter umher und bringen

Junge zur Welt, die sich mehrere Wochen auf den Platten lebend erhalten und dabei bis zur doppelten Größe heranwachsen. Sehr charakteristisch für die *Nematosis ornatus*-Larven sind in der vorderen Körperpartie dicht vor dem Bulbus in regelmäßiger Anordnung wie Augen gelegene, stark lichtbrechende Kügelchen, die, von oben betrachtet, als Vierergruppe erscheinen und zuerst am 4. Tage der Kultur auftreten. Da sie sich nach Fixation mit Flemmingscher Flüssigkeit intensiv bräunen, müssen sie eine fettähnliche Substanz enthalten.

Weitere günstigere Resultate ergaben sich mit der Agarzüchtungsmethode bei dem Nematoden *Angiostomum*, der bekanntlich einen Generationswechsel aufweist. Die eine Generation lebt als Zwitter in der Lunge von Frosch und Kröte, die andere, getrenntgeschlechtliche, gelangt durch den Darm des Frosches nach außen und erzeugt im Schlamm Larven, die zu der Zwittergeneration heranwachsen und wieder in Frösche einwandern müssen. Soweit der Entwicklungszyklus sich nicht in der Froschlunge abspielt, läßt er sich auf das beste auf Agarplatten verfolgen. Zerzupft man einen aus der Froschlunge herauspräparierten, trächtigen Zwitter auf der Agarplatte, so ist schon nach kurzer Zeit das Ausschlüpfen der getrenntgeschlechtlichen Generation aus den in Massen dem Zwitterkörper entquollenen Eiern zu beobachten. Nach 2 Tagen kann man unter den sich, namentlich in kleinen Flüssigkeitsansammlungen, auf der Platte munter herumtummelnden Würmern deutlich die Männchen von den Weibchen unterscheiden, die unter Heranreifung der Eier rasch an Größe zugenommen haben. Schon am nächsten Tage sind trachtige Mütter mit Embryonen zu beobachten. In vorzüglicher Weise läßt sich nun auf den Platten der eigentümliche Vorgang studieren, daß in den Müttern 2 bis 4 Larven der Zwittergeneration ausschlüpfen und die Organe des lebenden Mutterkörpers nach und nach verzehren, so daß schließlich nur die leere Mutterhaut zurückbleibt, aus der sich dann die jungen Zwitterlarven herausbohren. Es gelang, dieselben noch 9 Tage auf den Agarplatten lebend zu erhalten.

Ueber die spezielle Technik der Agarzüchtungsmethode für Nematoden sei folgendes bemerkt: Verwandt wird derselbe Nährboden, wie er auch für Amöbenzüchtung Verwendung findet (sog. Amöbenagar): Agar 1,5, Leitungswasser 90,0, alkalische Nährbouillon 10,0. Nachdem der Agar an 3 aufeinander folgenden Tagen im Dampftopf je  $\frac{1}{2}$  Stunde sterilisiert ist, werden von ihm Platten in sterilen Petri-Schalen gegossen. Sollen Pflanzenmaterialien auf saprophytische Nematoden untersucht werden, so werden Stückchen von ihnen einige Minuten in Leitungswasser angefeuchtet und dann auf die Mitte der nach Abkühlung fest gewordenen Agarplatten gebracht. Die beschickten Platten werden bei Zimmertemperatur unter Zutritt des Tageslichts gehalten. Nach 24 Stunden sind, von den Rändern des Pflanzenstückchens ausgehend, Amöben und Bakterien gewachsen, welche sich allmählich über die ganze Platte ausbreiten. Nach frühestens 4 Tagen, oft erst nach 10—14 Tagen, kommen die ersten Nematoden zum Vorschein. Sie zerstreuen sich, Kriechspuren hinterlassend, über die Platte, indem sie sich teils oberflächlich ausbreiten, teils in den Agar hineinwühlen. Die beimpften Platten müssen stets auf genügenden Feuchtigkeitsgehalt kontrolliert werden. Bei Trockenwerden des Nährbodens sterben die Nematoden ab. Droht eine Kultur durch beginnende Eintrocknung des Agars zugrunde zu gehen, so wird eine Agarflocke auf eine neue Agarplatte übertragen, womit die Erhaltung und Fortpflanzung der Art gesichert ist. Während sich zur Ausgangs-

und Fortzüchtung nicht zu dünn gegossene Agarplatten von 9 cm Durchmesser, wegen ihrer größeren Feuchtigkeitsfläche, eignen, sind für die Uebertragung einzelner Nematoden oder Eier zur Anlage von Reinkulturen möglichst dünn gegossene Platten von 7 cm Durchmesser oder noch kleinere vorzuziehen, die sich vorzüglich zur Untersuchung unter dem Präpariermikroskop eignen.

Will man zur Erzielung von Reinkulturen einzelne Würmer oder Eier von einer beimpften Platte auf eine andere übertragen, so wird es bei nicht sehr stark besetzten Platten unter dem Präpariermikroskop leicht gelingen, das gewünschte Objekt mit einem feinen Spatel isoliert herauszuheben. Sind die Platten hingegen dicht mit Würmern durchwachsen, so verfährt man zweckmäßig so, daß man die mit dem Spatel herausgehobene Agarflocke zunächst auf einem Deckglas in einem Tropfen Wasser fein verteilt. Die überflüssigen Würmer werden dann mit zusammengefalteten Filtrierpapierstücken oder mit der Pipette entfernt. Ist das Objekt völlig isoliert, also in etwa anhaftenden Agarresten bei genauer Kontrolle keine andere Nematode oder ein Ei noch verborgen, so wird die Stelle des Deckgläschens, auf welcher das Objekt ruht, mit dem Glasdiamanten vorsichtig herausgeschnitten. Dieses Splitterchen wird dann auf die neue Agarplatte übertragen.

Wenn bei der Uebertragung auch mit den anhaftenden Agarteilchen Bakterien mitüberpflanzt werden, so ist es doch zweckmäßig, die neue Platte bereits 24 Stunden vor der Uebertragung eines Nematoden oder Eies mit Amöben und Bakterien zu beimpfen, da die Erfahrung gelehrt hat, daß die Nematodenkulturen auf bereits mit Bakterien und Amöben beschickten Platten am besten gedeihen.

Ob die Bakterien und Amöben dabei den Nematoden direkt als Nahrung dienen oder ob sie ihnen nur eine leichtere Resorption des Agars ermöglichen, muß zunächst dahingestellt bleiben. Die Amöben selber nähren sich ja bekanntlich in den Agarkulturen ausschließlich von den gleichzeitig mit ihnen übertragenen Bakterien. Der Agar hat also für sie lediglich die Bedeutung, das Wachstum ihrer Nahrungsbakterien zu ermöglichen. Bei den Nematoden dagegen muß, da die saprophytischen Formen in der Natur nicht selten in den organischen Säften leben, durchaus die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß sie die Fähigkeit haben, den Agar selbst als Nahrung auszunutzen<sup>1)</sup>. Versuche zur Entscheidung der angeschnittenen Frage stoßen auf die Schwierigkeit, daß es kaum möglich ist, die Nematoden keimfrei auf die Platte zu bringen. Jedenfalls haben Versuche gelehrt, daß die Würmer um so besser auf den Agarplatten gedeihen, je reicher diese mit Bakterien oder Amöben beschickt sind.

Dabei ist es im allgemeinen gleichgültig, welche Bakterienart auf die Platten behufs Weiterzüchtung der Nematoden übertragen wird. Jedoch erfolgte die Vermehrung der Nematoden bei Beimpfung der Platten mit hauptsächlich bei 37° wachsenden Bakterien weniger gut und schnell, als bei Beimpfung mit schon bei 22° wachsenden. Am besten werden die vom Ausgangsmaterial gewonnenen Bakterien verwandt. So wurden für

1) Auch Potts, der hervorhebt, daß die Nematoden sich in den flüssigen Nährböden nur dann gut entwickeln, wenn diese reichlich von Fäulnisbakterien durchsetzt sind, läßt es unentschieden, ob die Bakterien selbst es sind, die als Nahrung verzehrt werden. So bemerkt er (l. c. S. 444): „Es liegt lediglich an der Gegenwart der großen Bakterienmengen oder der durch sie gebildeten Stoffe, daß die Nematoden so gut gedeihen.“

die Versuche mit den Froschparasiten (*Nematosis*, *Angiostomum*) aus dem Froschdarm gezüchtete Coli-Bakterien gewählt.

Oft ist es zweckmäßig, die Platten nicht nur durch Ausstrich der Bakterien auf der Platte, sondern auch durch Vermischung derselben mit dem verflüssigten Nährboden (Schüttelkultur) zu beimpfen. Auch empfiehlt es sich, in die erstarrte Platte einige Einschnitte mit einer kleinen Lanzettadel zu machen, um Spalten hervorzurufen, die den Nematoden das Eindringen in die tieferen Agarschichten erleichtern. An dem blinden Ende der Spalten sammeln sich die Nematoden mit Vorliebe an. Bei eierlegenden Formen findet man hier die meisten abgesetzten Eier. Auf frisch angelegten, noch schwach besetzten Platten kann man daher nach dem Anbringen von Agarspalten die Nematoden leichter wiederfinden und in ihrer Entwicklung verfolgen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Agarmethode sich bisher gut für die Züchtung saprophytischer Nematoden und einzelner Stadien von Kaltblüterparasiten bewährt hat. Es steht zu hoffen, daß sie sich auch für die Kultur von Warmblüterparasiten und Pflanzenparasiten weiter wird ausbilden lassen. (G. C.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Wiedergewinnung von gebrauchten gefärbten Agarnährböden auf kaltem Wege ohne Filtration.

[Aus dem Hygienischen Institut der Königl. Techn. Hochschule zu Danzig  
(Vorstand: Oberstabsarzt Prof. Dr. Petruschky).]

Von H. Zipfel.

Wie auf andere wissenschaftliche Gebiete, ist der Weltkrieg auch auf die bakteriologische Technik nicht ohne Einfluß geblieben und hat dieselbe vor eine Reihe neuer Aufgaben gestellt, deren wichtigste wohl die Beschaffung ausreichender Mengen fester bakteriologischer Nährsubstrate ist.

Durch die einerseits infolge unterbundener Auslandeinfuhr entstandene Knappheit unserer Vorräte an Agar und durch den andererseits infolge außerordentlich gesteigerter Inanspruchnahme der bakteriologischen Untersuchungsstellen und Institute zur Herstellung von Impfstoffen bedingten Mehrverbrauch und die damit verbundene, sehr beträchtliche Preissteigerung des Agars sind wir gezwungen, mit den vorhandenen Vorräten schonend und sparsam umzugehen.

Gleichzeitig gilt es aber auch, für die bisher aus Fleisch bzw. Fleischextrakt hergestellte Nährbouillon gleichwertige Ersatzstoffe heranzuziehen, um im Interesse unserer Volkswirtschaft alles Fleisch ausschließlich der menschlichen Ernährung zuzuführen.

Diese Einschränkungen bei der Herstellung fester bakteriologischer Nährböden haben den Ansporn dazu gegeben, daß von verschiedenen Seiten Verfahren ausgearbeitet und veröffentlicht worden sind, die bezwecken, den gebrauchten Nähragar, der bisher als wertlos verworfen wurde, für neue Untersuchungen wieder verwendungsfähig zu machen<sup>1)</sup>.

Alle diese Verfahren stellen mehr oder weniger Modifikationen ein und desselben Grundgedankens dar: Der gebrauchte Agar wird aus den Platten geschabt, gesammelt, mit oder ohne Wasserzusatz verflüssigt und, nachdem er durch längeres Erhitzen im Dampftopf keimfrei gemacht ist, je nach seiner Eigenart (Endo-Drigalski-Malachitgrünagar) mit verschiedenen chemischen Mitteln behandelt. Die Farbstoffe werden durch Oxydationsmittel (Bariumsuperoxyd, Wasserstoffsuperoxyd, Chlor, Chlorkalk) oder Alkalien (Natronhydroxyd) in farblose Verbindungen übergeführt, oder durch Zusatz von Kohle mechanisch absorbiert, überschüssiges Natriumsulfit wird in Natriumsulfat verwandelt und durch Bariumsuperoxyd als unlösliches Bariumsulfat ausgeschieden. Durch weiteren Zusatz von Eiweiß bzw. Serum werden dann in dem auf 60° abgekühlten Agar die abgetöteten Bakterienmassen mitsamt den anderen unlöslichen Stoffen als Bodensatz niedergeschlagen und durch Filtration entfernt. Durch Eindampfen oder Beigabe von frischem Agar wird die gewünschte Konzentration hergestellt, durch Zufügen berechneter Mengen Pepton und Fleischextrakt der Nähragar wieder gebrauchsfertig gemacht.

Die Wiedergewinnung von Agar, der hinsichtlich seiner Konsistenz, Erstarrungsfähigkeit und Wachstumseignung allen Anforderungen gerecht wird, gestaltet sich nach den bisher veröffentlichten Verfahren, wie sich jeder durch Nachprüfung einer oder der anderen Modifikation leicht überzeugen kann und mancher sich schon überzeugt haben dürfte, durchaus nicht immer so leicht und einfach, wie es nach den gegebenen Vorschriften den Anschein hat.

Bei den verschiedenen chemischen Umsetzungen, die sich bei dem Wiedergewinnungsprozesse in dem heißen Agar abspielen, entsteht eine Reihe Verbindungen, die, wenn sie nicht restlos wieder entfernt werden, auf den fertigen Agar hinsichtlich seiner Konsistenz, seines Erstarrungsvermögens und seiner Wachstumseignung einen nachteiligen Einfluß ausüben, zumal wenn der Agar schon mehrere Erneuerungsprozesse durchgemacht hat.

War von jeher die Filtration des Agars ein Schmerzenskind der bakteriologischen Technik — die vielen Verfahren und Apparate, die zu diesem Zwecke angegeben sind, legen ein beredtes Zeugnis ab — so stellt das Filtrieren des mit Bakterienmassen, chemischen Zusätzen verschiedener Art, Tierkohle und Eiweißgerinnsel beladenen Agar an die Geduld und Geschicklichkeit des Nährbodenkochs hohe Ansprüche und erfordert, da die Filtration nur durch Papierfilter im Heißwassertrichter oder im Dampftopf vorgenommen werden kann, einen außerordentlich hohen Gasverbrauch, der in Anbetracht des allgemeinen Kohlenmangels

1) Mohorcic, München. med. Wochenschr. 1915. S. 1043; Guth, Deutsch. med. Wochenschr. 1915. S. 1544; Ungemach & Co., Deutsch. Reichspat. No. 298133 vom 25. Jan. 1916; Kuhn u. Jost, München. med. Wochenschr. 1916. S. 1398; Serger, Pharm. Zentralhalle. 1916. S. 407; Schürmann, München. med. Wochenschr. 1917. S. 397; Kaunitz u. Mossler, Wien. klin. Wochenschr. 1917. No. 11; Baerthlein, München. med. Wochenschr. 1917. S. 466; Rieckenberg, ebenda. S. 542.

unter allen Umständen vermieden werden sollte, und bedeutet einen Materialverlust von 15—20 Proz.

Serger (l. c.) berechnet die Menge Agar, die bei geeigneter Anlage von Reihenfiltern durch Papierfilter fließt, pro Stunde auf ca. 300 ccm; da naturgemäß bei längerer Filtrationsdauer die Menge des Filtrates in gleicher Zeit immer geringer wird, so dürfte die Filtrationsdauer eines Liters regenerierten Agars mit 4—5 Stunden als nicht zu hoch veranschlagt werden. Während dieser Zeit muß der Heißwassertrichter bzw. der Dampftopf ununterbrochen erhitzt werden.

Bei allen bisher bekanntgegebenen Verfahren zur Wiederherstellung von gebrauchtem Nähragar sind die chemisch-physikalischen Eigenschaften des Agars wenig berücksichtigt worden, und bieten doch gerade diese einen neuen, gangbaren Weg, auf billige und einfache Weise ohne Gasverbrauch, ohne Filtration und ohne Materialverlust gebrauchten, gefärbten Nähragar wieder verwendungsfähig zu machen.

Agar zählt seinen physikalisch-chemischen Eigenschaften nach zu denjenigen Kolloiden, welche die Fähigkeit besitzen, unter gewissen Bedingungen in gallertartiger Form zu erstarren. Bei Anwendung von Wasser als Lösungsmittel bezeichnet man die gelöste Form eines solchen Kolloides als Hydrosol, die gallertartige erstarrte Form als Hydrogel; flüssiger Nähragar stellt demnach ein Hydrosol, fester dagegen ein Hydrogel dar.

Bringt man ein Hydrogel in destilliertes Wasser oder in eine Salzlösung, so spielen sich, bedingt durch veränderte Oberflächenspannung und verschiedenen osmotischen Druck, Vorgänge ab, die darin ihren Ausdruck finden, daß einmal aus dem Hydrogel Stoffe in das umgebende destillierte Wasser wandern, zum anderen aus der Salzlösung Salze in das Hydrogel aufgenommen werden.

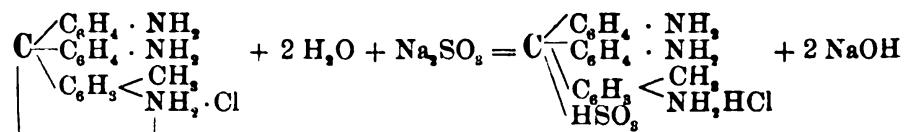
Unter Berücksichtigung dieser Eigenschaften der Hydrogele wurde nun eine Reihe Vorversuche angestellt, um die allgemeinen Gesichtspunkte festzulegen, die hinsichtlich der Erneuerungsmöglichkeit des gebrauchten, gefärbten Nähragars auf kaltem Wege Erfolg versprechen mußten.

### Versuche mit Fuchsinfarbstoff.

Als Farbstoff wird im Endo-Agar das Rosanilinchlorhydrat (Fuchsin) verwendet. Die Lösungen dieses Triamino-triphenylmethanfarbstoffes lassen sich durch chemische Agentien oder durch Tierkohle entfärben. Die durch die Einwirkung der verschiedenen Stoffe aus Rosanilinchlorhydrat entstehenden farblosen Produkte sind aber nicht identisch, sondern stellen alle verschiedene, wohlcharakterisierte Verbindungen dar.

Rosanilinchlorhydrat wird im Farbton verändert:

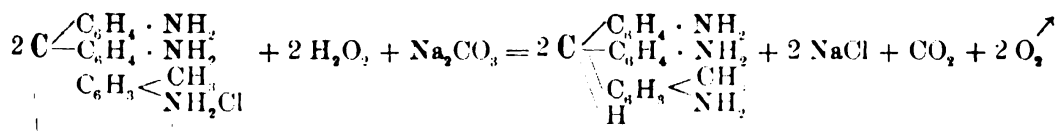
1) durch Einwirkung von schwefliger Säure, bzw. deren Salze, indem sich farblose Rosanilinchlorhydratleukosulfonsäure (fuchsin-schweflige Säure) und Natriumhydroxyd bildet nach der Gleichung:



Der chinoide Chromophor des Farbstoffes wird vernichtet, Fuchsin hört dadurch auf, Farbstoff zu sein. Das entstandene Schwefligsäureanlagerungsprodukt ist sehr labil, schon beim Erhitzen tritt Dissoziation ein. Der Prozeß ist aber umkehrbar, beim Erkalten entfärbt sich die Lösung, indem sich die schweflige Säure wieder anlagert.

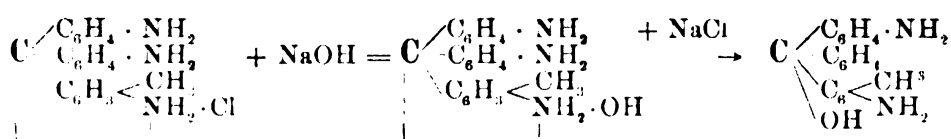
2) Durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd in schwach alkalischer Lösung.

Wasserstoffsuperoxyd wirkt hier nicht oxydierend, sondern reduzierend, indem der lose gebundene Sauerstoff vermutlich als molekularer Sauerstoff entweicht und sich Leukanilin bildet:



3) Durch Einwirkung von Natriumhydroxyd.

Bei vorsichtiger Umsetzung von Rosanilinchlorhydrat mit Natronlauge in der Kälte entsteht in erster Phase die wasserlösliche, rot gefärbte Ammoniumfarbbase des Rosanilins (der chinoide Charakter des Fuchsins ist noch erhalten), die dann weiter unter Zerstörung des chinoiden Chromophors zur farblosen, unlöslichen Karbinolbase isomerisiert wird.



Die Karbinolbase ist nicht beständig; sie nimmt bei längerer Berührung mit Luft Sauerstoff auf und infolgedessen einen leicht rötlichen Farbton wieder an.

4) Durch Einwirkung von Salzsäure im Ueberschuß.

Als einsäuriges Farbsalz hat Rosanilinchlorhydrat, wie alle anderen Triaminotriphenylmethanfarbstoffe, die Eigenschaft, durch Aufnahme von 3 Molekülen Salzsäure in eine (nur leicht gelbliche) additionelle Verbindung überzugehen (Triazidverbindung), die sich unter Säureabspaltung leicht in das einsäurige Farbsalz (Monazidverbindung) zurückverwandelt.

5) Durch Einwirkung von Tierkohle.

Das Farbsalz wird hierbei mechanisch von der Tierkohle absorbiert, die Lösung bleibt dauernd farblos.

### Versuche mit Endo-Agar.

Im Hinblick auf vorstehende Reaktionen des Rosanilinchlorhydrates wurden mit *Bacterium coli* dicht bewachsene, völlig gerötete Endo-Platten in Streifen geschnitten und in entsprechender Weise behandelt, und zwar

- 1) mit verdünnter Natriumsulfitlösung (1-proz.),
- 2) mit verdünnter Wasserstoffsuperoxydlösung (3-proz.),
- 3) mit verdünnter Natriumhydroxydlösung (0,5-proz.),
- 4) mit verdünnter Salzsäurelösung (3-proz.) und
- 5) mit einer wässerigen Aufschwemmung von Tierkohle (2-proz.).



In allen 5 Fällen verändern die eingebrachten roten Agarstückchen ihre Farbe. Die Entfärbung geht in den Lösungen 1—4 ziemlich schnell vonstatten. In Lösung 5 wird der Farbstoff sehr langsam entzogen, da es sich hier um mechanische Absorption des p-Rosanilinchlorhydrates durch die fein verteilten Kohlepartikelchen handelt, es bedarf einer mindestens 24-stündigen, innigen Berührung des Agars mit der Kohle unter öfterem Umschütteln.

Alle Proben wurden nach der Entfärbung auf kleine Siebböden gegeben, durch kräftigen Wasserstrahl unter der Leitung von den anhaftenden Partikeln (Bakterienmassen, Kohleteilchen u. a. m.) befreit und dann 24 Stunden in oft gewechseltem Wasser gewässert.

Die durch Salzsäure entfärbten Agarstückchen hatten durch die Wässerung wieder einen rötlichen Farbton angenommen (Zerlegung der farblosen Triazidverbindung), während die durch die anderen Lösungen farblos gewordenen Agarstückchen durch die Wässerung nicht beeinflusst worden waren.

Die gut abgetropften Agarstückchen wurden nun in Kochkolben gebracht, verflüssigt, schwach alkalisiert, 1 Stunde sterilisiert und dann zu Platten ausgegossen. Die mit Lösung 1, 2, 3 und 5 behandelten Agarstückchen ergaben einen klaren, durchsichtigen, farblosen (höchstens leicht gelblichen oder hellrosa schimmernden) Agar, während der mit Lösung 4 behandelte einen roten Farbton angenommen hatte. Die Erstarrungsfähigkeit und Konsistenz hatte bei allen 5 Proben in keiner Weise gelitten. Das Wachstum ausgesäter Coli-Bakterien auf dem regenerierten Agar war naturgemäß ein recht kümmerliches, da durch das Wässern das Pepton und Fleischextrakt zum größten Teile ausgelaugt war.

Nach Zusatz von Pepton und Fleischextrakt unterschied sich der nach einer der 5 Methoden wiedergewonnene Agar hinsichtlich seiner Wachstumseignung in keiner Weise von gewöhnlichem Nähragar.

Versuche, den mit Lösung 1 behandelten Agar durch Zusatz von Pepton, Fleischextrakt, Milchzucker, Natriumsulfit und Sodalösung ohne erneute Zugabe von Fuchsin als Endo-Agar zu verwenden, zeitigten in bezug auf Farbumschlag kein befriedigendes Ergebnis; entweder unterblieb die Rötung durch *Bacterium coli*, oder aber sie dehnte sich unterschiedslos gleichmäßig über die ganze Platte aus.

Nach dieser Richtung hin mußten weitere Versuche vorgenommen werden.

Ehe an diese herangetreten wurde, galt es, eine andere, nicht minder wichtige Frage zu lösen: Die Sterilisation der mit pathogenen Mikroorganismen bewachsenen Platten vor ihrer Weiterverarbeitung auf kaltem Wege.

Es würde zu weit führen, alle Versuche, die zur Lösung dieser Frage angestellt wurden, hier einzeln aufzuführen. Die mit pathogenen Keimen (Typhus-, Dysenterie-, Cholerabazillen) bewachsenen Agarstreifen wurden mit einer Reihe von Desinfizientien (Phenol, Formaldehyd, Quecksilberchlorid, Chloroformwasser u. a. m.) behandelt. Die Entkeimungsergebnisse waren alle nicht recht zufriedenstellend, wenn auch die Wachstumseignung des mit den Desinfektionsmitteln behandelten Agars in keiner Weise gelitten hatte, da die Antiseptika durch genügend langes Wässern restlos aus dem Agar ausgewaschen werden.

Nach vielen Versuchen wurde auf Anregung des Herrn Professor

Petruschky in einer 3-proz. Salzsäurelösung das geeignete Mittel gefunden, Platten, die dicht mit Reinkulturen von Typhus-, Dysenterie- und Cholerabazillen bewachsen waren, in kurzer Zeit mit Sicherheit keimfrei zu machen.

Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß die Salzsäurebehandlung des Agars weitere Vorteile bietet.

Im Endo-Agar vorhandenes, überschüssiges Natriumsulfit wird in Natriumchlorid und schweflige Säure, nicht verbrauchtes Natriumkarbonat in Kohlendioxyd und Kochsalz, Fuchsin in die farblose Triazidverbindung übergeführt. Durch das nachfolgende Wässern des Agars wird die Salzsäure wieder ausgewaschen (Umschlag des Agars von farblos in rötlich), von den löslichen Stoffen Fuchsin zum großen Teile, Natriumsulfit, Kochsalz, Milchzucker, Pepton und Fleischextrakt bis auf Spuren entfernt, so daß bei gut geleiteter Wässerung nur leicht rot gefärbter, neutral reagierender Agar in Hydrogelform zurückbleibt.

Bei der Weiterverarbeitung auf Endo-Agar erübrigt es sich, den rötlichen Farbton vollständig zu entfernen, da er auf das Aussehen und den Farbumschlag des fertigen, regenerierten Endo Agars keinerlei Einfluß ausübt.

Der Nachweis, daß durch das Wässern alle gelösten Salze entfernt werden, kann in folgender Weise erbracht werden:

100 g 24 Stunden lang gewässerter Agar wird im Kochkolben verflüssigt und durch Zusatz einer hinreichenden Menge Alkohols gefällt. Nach Verjagen des Alkohols auf dem Wasserbade wird der wässerige Teil des Filtrates zur Trockne gebracht, im Platintiegel verascht und leicht geglüht. Der Glührückstand wird mit wenig Wasser aufgenommen und mit Silbernitrat auf Chloride, mit Bariumchlorid auf Sulfate geprüft. In beiden Fällen tritt nach einiger Zeit ganz schwache Opaleszenz der Flüssigkeiten ein. Hierzu ist zu bemerken, daß trockener Agar von Natur aus Spuren von Chloriden und Sulfaten enthält.

Die Verarbeitung gebrauchten Endoagars gestaltet sich für die Praxis nunmehr folgendermaßen:

Aus den gebrauchten Platten werden die roten Endo-Agarscheiben mit einem Messer herausgehoben und in einem geräumigen Glas- oder Porzellangefäß gesammelt. 70—75 Endo-Platten von 10 ccm Durchmesser entsprechen etwa 1 l flüssigen Agars. Zu den gesammelten Agarscheiben fügt man nach und nach, unter Umrühren mit einem Glasstabe, so viel 3-proz. Salzsäurelösung (3:100), daß die Flüssigkeit die Agarstückchen vollständig bedeckt.

Unter öfterem, kräftigem Umrühren, wodurch die Agarscheiben zerkleinert und die Bakterienrasen abgespült werden, läßt man die Salzsäurelösung 1 Stunde lang einwirken. Nach dieser Zeit sind pathogene Keime (Typhus, Dysenterie, Cholera) vernichtet und die roten Agarstückchen gelblich geworden, da durch den Säureüberschuß das gefärbte Fuchsin-salz in die ungefärbte Triazidverbindung übergegangen ist.

Der Agar wird nunmehr auf einen Siebboden gebracht — die Salzsäurelösung, in welche die Hauptmenge Pepton und Fleischextrakt übergegangen ist, kann gesondert aufgefangen und auf Pepton und Fleischextrakt verarbeitet werden (siehe unten) — und unter der Wasserleitung mit kräftigem Strahle abgespült, bis das ablaufende Wasser klar er-

scheint. Nach gutem Abtropfen gibt man die Agarstückchen in ein geräumiges Gefäß und wässert unter öfterem Wasserwechsel 24 Stunden. Während des Wässerns nimmt das Waschwasser und der Agar einen roten Farbton an, die Triazidverbindung des Fuchsins ist in die Monazidverbindung übergegangen.

Die gut abgetropften, rötlichen Agarstückchen werden nunmehr ohne jeden Wasserzusatz im Dampftopf verflüssigt. Zu 1 l dieses verflüssigten Agars fügt man hinzu:

8—10 ccm 10-proz. Sodalösung,

40 ccm einer filtrierten und sterilisierten Lösung von 20 Proz. Pepton und 20 Proz. Fleischextrakt oder Fleischersatz und sterilisiert 1 Stunde im Dampftopf.

Hat man, wie oben erwähnt, die Salzsäurelösung gesondert aufgefangen, so kann man diese auf Nährbouillon verarbeiten, indem man sie aufkocht, mit Soda neutralisiert, filtriert (event. unter Kohlezusatz) und durch Eindampfen konzentriert. Will man das Eindampfen umgehen, so verwendet man den neutralisierten und filtrierten Salzsäureauszug unter Zugabe von 2—3 g Pepton pro Liter beim Neukochen von Agar an Stelle von Fleischwasser.

Um als Endo-Agar verwendet zu werden, erhält der Agar folgende Zusätze pro Liter:

3 ccm alkoholische Fuchsinlösung<sup>1)</sup>,

25 ccm Natriumsulfatlösung 10-proz. (frisch bereitet) und

8 g Milchzucker (vorher in wenig Wasser gelöst).

Der in Platten ausgegossene, erstarrte, regenerierte Endo-Agar ist in der Durchsicht klar und farblos und unterscheidet sich hinsichtlich Konsistenz, Wachstumseignung und Farbenumschlages in keiner Weise von frisch zubereitetem.

#### Verarbeitung gebrauchten Endoagars auf gewöhnlichen Nähragar.

Will man gebrauchten Endo-Agar vollständig entfärben, um ihn als gewöhnlichen Nähragar zu verwenden, so bringt man die Agarstückchen, anschließend an die Salzsäurebehandlung, nach kurzem Abspülen mit Wasser in eine 0,5-proz. Natriumhydroxydlösung und beläßt sie so lange darin, bis der Agar keinen rötlichen Farbton mehr zeigt. Dann ausreichende Wässerung, bis der Agar neutral reagiert. Weiterverarbeitung unter Zusatz von Pepton und Fleischextrakt. Ein eventuell beim Kochen wieder auftretender Farbton (hellrosa) kann durch Zusatz von 1 ccm einer 1-proz. Bismarckbraunlösung pro Liter vollkommen verdeckt werden.

Aussehen, Konsistenz, Erstarrungsfähigkeit und Wachstumseignung wie frisch bereiteter, gewöhnlicher Nähragar.

#### Verarbeitung gebrauchten Drigalski-Agars auf Drigalski-Agar.

Säurebehandlung und kurzes Abspülen mit Wasser zur Entfernung des Bakterienrasens. Die rot gefärbten Agarstückchen nehmen in der

1) 10 g Fuchsin werden in der Reibschale fein zerrieben, nach und nach mit 100 ccm absoluten Alkohols in eine Flasche gespült, 24 Stunden unter öfterem Umschütteln bei 37° gehalten und dann filtriert.

anschließenden 24-stündigen Wässerung zum Teil blaue Färbung an. Nach dem Wässern bringt man den Agar in eine ganz schwache Sodaauslösung (0,1-proz.), beläßt ihn so lange darin, bis er durchweg blaue Farbe angenommen hat. Abspülen, anschließend kurzes Wässern. Der gut abgetropfte Agar wird verflüssigt, mit Pepton und Fleischextrakt versetzt und sterilisiert. Die Weiterverarbeitung erfolgt nach der Originalvorschrift.

Regenerierter Drigalski-Agar zeigt den Nachteil, daß durch jedesmal erneuten Zusatz von 130 ccm Lackmuslösung pro Liter die Konsistenz des erstarrten Agars nicht befriedigt. Diesen Uebelstand beseitigt man dadurch, daß man die käufliche Kahlbaumsche Lackmuslösung vor dem Zusatz zum Agar 5-fach konzentriert. Man dampft z. B. 250 ccm auf 50 ccm ein. Von dieser konzentrierten Lackmuslösung setzt man dem Agar pro Liter nur 20 ccm zu.

Der nach dieser Vorschrift bereitete Agar entspricht hinsichtlich Konsistenz, Wachstumseignung und Farbumschlages vollkommen einem frisch bereiteten, nach Originalvorschrift hergestellten Drigalski-Agar.

#### Verarbeitung gebrauchten Malachitgrünagars auf Malachitgrünagar.

Das im Malachitgrünagar und im Padlewski-Agar verwendete Farbstoffsalz Malachitgrün gehört wie das Rosanilinchlorhydrat zur Klasse der Triphenylmethanfarbstoffe; es verhält sich gegen die  $\alpha$ , bei p-Rosanilin angegebenen Reagentien analog.

Malachitgrünagar läßt sich demnach nach dem angegebenen Endo-Verfahren ebenfalls wieder verwendungsfähig machen: Salzsäurebehandlung, gründliche Wässerung, Schmelzen des gewässerten Agars, Zusatz von Pepton und Fleischextrakt, Sterilisation. Der erneute Malachitgrünzusatz regelt sich nach der Reaktion des Agars. Da geringe Schwankungen der Reaktion — je mehr Alkali, um so weniger Malachitgrün und umgekehrt — auf die Wachstumseignung des Agars von großem Einfluß sind, so ist die optimale Malachitgrünkonzentration für jede Portion regenerierten Agars jedesmal durch Versuche festzustellen.

#### Verarbeitung gebrauchten Padlewski-Agars auf Padlewski-Agar.

Das Regenerierungsverfahren entspricht vollkommen dem bei Endo-Agar angegebenen.

#### Zusammenfassung.

Das vorstehend beschriebene Verfahren zur Wiedergewinnung gebrauchter gefärbter Agarnährböden auf kaltem Wege unterscheidet sich vorteilhaft von allen bisherigen, zu gleichen Zwecken empfohlenen Verfahren dadurch,

daß es in seiner Handhabung einfach, bequem und zuverlässig ist und auch von weniger eingearbeiteten und chemisch geschulten Hilfskräften ohne weiteres ausgeführt werden kann,

daß es in seiner Ausführung keine Kosten verursacht, da jede Filtration, jeder Gasverbrauch und jeder Materialverlust fortfällt,  
daß der wiedergewonnene Agar hinsichtlich Konsistenz, Erstarrungsvermögen, Wachstumseignung und Farbumschlags auch nach öfteren Erneuerungsverfahren frisch bereitetem Agar gegenüber keine Unterschiede zeigt,  
daß es in gleicher Weise die Wiederverwendungsmöglichkeit gebrauchten Endo-Drigalski- und Malachitgrünagars gestattet.

Stellen die bisherigen Verfahren lediglich Kriegsmaßnahmen dar, nach denen in Friedenszeiten bei normalen Agarpreisen eine Wiedergewinnung des Agars als unrentabel bezeichnet werden muß, so dürfte sich die Verarbeitung gebrauchten Agars nach dem vorstehend beschriebenen Verfahren auf kaltem Wege auch bei niedrigsten Friedenspreisen als noch lohnend erweisen.

Danzig, den 18. Sept. 1917.

(G. C.)

---

### Inhalt.

**Eisenberg, Philipp**, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. VI. Mitteilung: Variabilität in der Typhus-Coli-Gruppe, S. 385.

**Hilgermann u. Weissenberg, Richard**, Nematodenzüchtung auf Agarplatten, S. 467.

**Kostrzewski, J.**, Ueber die Wassermannsche Reaktion im Blutserum, Bauchhöhlenflüssigkeit und Harn eines und desselben Kranken, S. 450.

**Müller, Max**, Ueber den Zusammenhang des Paratyphus der Tiere mit dem Paratyphus des Menschen. I—III, S. 413.

**Reinhardt, Ferdinand**, Zur Verhütung von Laboratoriumsinfektionen, S. 456.

**Rudin, Eduard**, Ueber ein eigenartiges Drüsenorgan bei Ophiotänien, S. 465.

**Zipfel, H.**, Die Wiedergewinnung von gebrauchten gefärbten Agarnährböden auf kaltem Wege ohne Filtration, S. 472.

---

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

# Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originala. Bd. 80. Heft 8.

Ausgegeben am 6. Mai 1918.

## Inhaltsverzeichnis.

### I. Verzeichnis der in Band 80 enthaltenen Arbeiten.

- Appel, Leo**, Zur Färbetechnik der Malaria-parasiten. 105  
**Bahr, L.**, Zehnjährige Erfahrungen mit „Ratin“. 213  
**Burekhardt, J. L.**, und **Enriquez, M. L.**, Ueber einige neuere Methoden der Diphtheriediagnose. 15  
**Ditthorn, Fritz**, Ueber ein neues wasserlösliches Kresolpräparat „Fawestol“. 374  
**Eisenberg, Philipp**, Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. VI. Mitteilung: Variabilität in der Typhus-Coli-Gruppe. 385  
**Enriquez, M. L. s. Burekhardt, J. L.**  
**Feldmann, Ignaz**, Ueber choleraähnliche Vibrionen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Mutationsvorgänge. 129  
**Fischen, Eleonore**, Körner in nach Ziehl gefärbten Tuberkelbazillen. 29  
**Gaehtgens, Walter**, Vergleichende Untersuchungen über die Erreger des Gasbrandes und des malignen Oedems. 166  
**Galli-Valerio, B.**, Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. 264  
**Gaßner, G. s. a. Zießler, Joh.**  
— Asparagin als Stickstoffquelle für Typhusbakterien. 258  
— Ein neuer Dreifarben Nährboden zur Typhus-Ruhr-Diagnose. 219  
— Metachromgelb als Hemmungsmittel für Kokken und Sporenbildner und seine Verwendbarkeit für Nährböden zur Typhus-Ruhrdiagnose. 120  
**Hallenberger**, Beitrag zur Aetiologie der Variola. 89  
**Hilgermann und Weissenberg, Richard**, Nematodenzüchtung auf Agarplatten. 467  
**Ihle, J. E. W.**, Strongyloides Westeri n. sp. 372  
**Kindborg, E.**, Zur Technik des Gonokokkennachweises. 188  
**Klaften, E. s. Kraus, Erik Joh.**  
**Köves, J.**, Rauschbrand- und Bradsot-ähnliche Krankheit der Schweine. 40  
**Kostrzewski, J.**, Ueber die Wassermannsche Reaktion im Blutserum, Bauchhöhlenflüssigkeit und Harn eines und desselben Kranken. 450  
**Kraus, Erik Joh.**, und **Klaften, E.**, Zur Kenntnis der Bakterien der „Faecalis-Gruppe“. 291  
**Krauß, Anton**, Ueber Mittel gegen Mücken und Zecken. 271  
**Kreßler, A.**, Hefeextraktnährböden. 380  
**Kuhn, Philalethes**, Fragen der Paragglutination. 107  
**van Loghem, J. J.**, und **Nieuwenhuijse, J.**, Paraffinum liquidum zur Erhaltung von Dieudonné's Blut - Alkali-Mischung. 383  
**Manninger, R.**, Ueber Komplementbindungsversuche bei Schafpocken. 190  
**Meggendorfer**, Ueber eine abgeschlossene Choleraepidemie mit zahlreichen Mischinfektionen. 273  
**Müller, Max**, Ueber den Zusammenhang des Paratyphus der Tiere mit dem Paratyphus des Menschen. I—III. 413  
**Nieuwenhuijse, J. s. van Loghem, J. J.**  
**Oettlinger, W.**, Zur Praxis und Theorie der Weil Felixschen Reaktion. 304  
**Paul, Gustav**, Ueber Mischinfektionen auf der Kaninchenhornhaut bei der experimentellen Pockenepitheliose. 361  
**Pfenninger, Walter**, Ueber die Beeinflussung der Agglutininproduktion. 200  
— Beiträge zur Beeinflussung der Resistenz von Versuchstieren gegenüber Infektionskrankheiten. 242  
**Prell, Heinrich**, Zur Kenntnis einiger defektiver Coli-Formen. 225  
**Pfibrum, Ernst**, Ueber Dysenterietoxin und Dysenterieantitoxin. I. Ein bisher unbekanntes Dysenterietoxin in den manitvergärenden Stämmen A-H von Kruse. 33

- de Raadt, O. L. E., Ueber den diagnostischen Wert des Serumpeptonverfahrens bei der bakteriologischen Diagnose der Cholera. 12
- Reinhardt, Ferdinand, Zur Verhütung von Laboratoriumsinfektionen. 456
- Rudin, Eduard, Ueber ein eigenartiges Drüsenorgan bei Ophiotänien. 465
- Salus, G., Zur Paragglutination. 196
- Schmitz, K. E. F., Was leistet die bakteriologische Typhusuntersuchung? Entgegnung auf die Arbeit von Kalthoff, Bd. 79. S. 145. 1
- Ströszner, Edmund, Ueber die Regenerierung von Nährböden. 222
- Tielemann, Eleonore Th. s. Unna, P. G.
- Trawinski, Alfred, Zur Morphologie und Biologie des *Bacillus suipestifer*. 339
- Unna, P. G., und Tielemann, Eleonore Th., Zur Chemie der Amöben. 66
- Verzár, Fritz, Ueber spontan agglutinierende Typhusbazillen. 161
- Weber, Kunigunde, Ueber die von v. Liebermann und Acél angegebene Vereinfachung der Widalschen Reaktion. 117
- Weissenberg, Richard s. Hilgermann.
- Wester, J., Ein neuer Strongyloides bei Füllen. 370
- Zeißler, Joh., und Gaßner, G., Ein Erneuerungsverfahren für gebrauchten Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarbennährboden. 253
- Zipfel, H., Die Wiedergewinnung von gebrauchten gefärbten Agarnährböden auf kaltem Wege ohne Filtration. 472
- Zschlesche, A., Beitrag zur Kenntnis der durch Erreger der Paratyphus-Gärtner-Gruppe hervorgerufenen Darmerkrankungen (Paracolibazilliose) der Kälber. 350

## II. Sachverzeichnis.

- Actinomycesdrusen, Haltbarkeit im Wasser. 266
- Aethrol gegen Mücken und Zecken. 271
- Aethylamin, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 248
- Agar zur Nematodenzüchtung. 467
- , Wiedergewinnung. 472
- Agglutination des *Bac. suipestifer*. 345
- bei choleraähnlichen Vibrionen. 132
- , Par- s. Paragglutination.
- , Spontan-, bei Typhusbazillen. 161
- zur Typhusdiagnose. 1
- Agglutinin-Bildung, Wirkung von Bromnatrium. 203
- , — —  $\text{CaCl}_2$ . 202
- , — — Cymol. 210
- , — — m-Kresol. 206
- , — — Natriumpropionat. 206
- , — — Natriumsulfat. 203
- , — —  $\text{SrCl}_2$ . 203
- Alanin, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 249
- Amidoisovaleriansäure, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 249
- Amoeba limax, Histochemie. 85
- Amöben, Chemie. 66
- , Färbung. 69
- , Fixation. 68
- , Konservierung. 270
- Anästhesin, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 247
- Angiostomum, Züchtung auf Agar. 470
- fuscovenosum, geographische Verbreitung. 265
- Antitoxin, Dysenterie. 33
- Arion rufus, Verbreitung von Helmintheneiern. 269
- Arvicola nivalis, Wirt von Ixodes tenuirostris. 266
- , — — Polyplax villosa. 266
- Ascaris lumbricoides, Eierverbreitung durch Schnecken. 269
- Asparagin als Stickstoffquelle für Typhusbakterien. 258
- Bacillus anthracis-Sporen, Wirkung von Fawestol. 378
- coli s. Bacterium coli. 17
- diphtheriae, Färbung. 16
- , Kultur. 376
- , Wirkung von Fawestol. 376
- , — — Kresolseife. 237
- dysenteriae, Eigenschaften. 33
- , Toxin. 403
- , Variabilität. 123
- , Wirkung von Metachromgelb. 197
- faecalis alcaligenes, Paragglutination. 291
- , — —, Untersuchungen. 291
- , — -Gruppe, Untersuchungen. 172
- , Gas-, Fraenkelscher, Untersuchung. 181
- des malignen Oedems, Untersuchung.

- Bacillus paracoli*, Kälberpathogenität. 360  
 — —, Kritik. 226  
 — —, Variabilität. 396  
 — *paratyphi*, Kälberpathogenität. 360  
 — —, Variabilität. 402  
 — —, Wirkung von Metachromgelb. 123  
 — *pseudodysenteriae*, Eigenschaften. 237  
 — —, Kritik. 40  
 — *pyocyaneus*, Wirkung von Fawestol. 376  
 — —, — — Kresolseife. 376  
 — *supestifer*, Agglutination. 345  
 — —, Biologie. 345  
 — —, Kulturelles. 341  
 — —, Morphologie. 341  
 — —, Schweinepesterreger. 339  
 — *tuberculosis*, Körner in nach Ziehl gefärbtem. 29  
 — *typhi*, agglutinierender, spontan. 161  
 — —, Anreicherung. 5  
 — —, Asparagin als Stickstoffquelle für denselben. 258  
 — — -Gruppe, Variabilität. 385  
 — —, Paragglutination. 196  
 — —, Wirkung von Fawestol. 376  
 — —, — — Kresolseife. 376  
 — *typhi*, Wirkung von Metachromgelb. 123  
 — —, Zwergformen. 401  
*Bacterium coli*, defektive Formen. 225  
 — — *commune*, Kritik. 226  
 — — -Gruppe, Variabilität. 385  
 — — *mutabile*, Kritik. 226  
 — — —, Variabilität. 386  
 — —, Paragglutination. 196  
 — —, Wirkung von Fawestol. 376  
 — —, — — Kresolseife. 376  
 — — —, Metachromgelb. 123  
 Bakterien der „*Faecalis*-Gruppe“. 291  
 —, Variabilität. 385  
*Balantidium coli*, Färbung usw. 271  
 —, Konservierung. 270  
 Bauchhöhlenflüssigkeit, Wassermannsche Reaktion mit derselben. 450  
*Bitis nasicornis*, Cysten. 269  
 — —, *Porocephalasis*. 269  
*Blastocystis muris*, geographische Verbreitung. 264  
 Blut-Alkali-Mischung Dieudonnés, Erhaltung mittels Paraffinum liquidum. 383  
 Bradsot-ähnliche Krankheit der Schweine, Bakteriologie. 40  
*Braula caeca*, geographische Verbreitung. 266  
 Bromnatrium, Wirkung auf die Agglutininbildung. 203  
 — — — — Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 244  
 Calciumchlorid, Wirkung auf die Agglutininbildung. 202  
 — — — — Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 245  
 Carvon, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 246  
*Ceratophyllum fasciatum*, geographische Verbreitung. 266  
*Chernes nodosus*, geographische Verbreitung. 266  
*Chlamydozoon variolo-vaccinae*, Rolle bei der Variola. 89  
 Chloralhydrat, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 247  
 Chlorcalcium s. Calciumchlorid.  
 Chloroform, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 247  
*Cholera asiatica*, Diagnose, bakteriologische. 282  
 — —, — — mittels Serumpeptons. 12  
 — — -Epidemie mit Mischinfektionen. 273  
 — —, Paragglutination. 287  
 — — ähnliche Vibrien s. *Vibrio cholerae*-ähnliche Vibrionen.  
 Cholin, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 248  
 Cineol, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 246  
*Ctenophthalmus agyrtes*, geographische Verbreitung. 266  
 Cymol, Wirkung auf die Agglutininbildung. 210  
 — — — — Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 245  
 Darmerkrankungen der Kälber, durch Bakterien der *Paratyphus*-Gärtner-Gruppe verursacht. 360  
 Desinfektion mit Fawestol. 374  
*Dibothriocephalus latus*, Eier. 267  
 — —, Färbung und Konservierung der Embryonen. 271  
 Dieudonnés Blut-Alkali-Mischung, Erhaltung mittels Paraffinum liquidum. 383  
 Diphtherie, Diagnose, bakteriologische. 15  
*Dispharagus nasutus* bei Numida. 268  
*Distoma migrans* bei *Sorex vulgaris*. 268  
 Dreifarbenährboden, Erneuerung. 253  
 — zur Typhus-Ruhr-Diagnose. 219. 253  
 Drüsenorgan bei Ophiotänien. 465  
 Dysenterie-Antitoxin. 33  
*Echinorhynchus salmonis*, geographische Verbreitung. 265  
 Eier von *Ascaris lumbricoides*, Verbreitung durch Schnecken. 269  
 — — *Dibothriocephalus latus*. 267  
 — — *Trichocephalus trichiurus*, Verbreitung durch Schnecken. 269  
*Eimeria salamandrae*, geographische Verbreitung. 264  
 Eiterung und Fadenpilze. 266  
*Emphysema oedematosum* der Schweine. 64  
*Entamoeba dysenteriae*, Färbung usw. 271  
 — —, geographische Verbreitung. 265  
 — *falciformis*, geographische Verbreitung. 264  
 — *gingivalis*, Färbung usw. 271  
 — —, geographische Verbreitung. 265  
 — *muris*, Färbung usw. 271  
 — —, geographische Verbreitung. 264



- Epitheliose, Pocken-, experimentelle, auf die Kaninchenhornhaut und Mischinfektionen. 361
- Eukalyptus-Aethrol gegen Mücken und Zecken. 272
- Fadenpilze und Eiterung. 266
- Faeces, Desinfektion mit Fawestol. 378
- Färbung der Amöben. 69
- des *Bac. diphtheriae*. 17
- — *Bac. tuberculosis*. 29
- der Geißeln. 270
- — Gonokokken. 188
- — Malaria-Parasiten. 105
- von Parasiten. 270
- — Spirochäten. 270
- Fawestol zur Desinfektion. 374
- , Wirkung auf Bakterien. 376
- Felix-Weilsche Reaktion, Praxis u. Theorie. 111. 304
- Filaria quadrispina*, geographische Verbreitung. 265
- Fixierung von Parasiten. 270
- Flecktyphus s. Typhus exanthematicus.
- Fleischvergiftung und Paratyphus. 416
- Fliege s. *Musca*.
- Füllen, *Strongyloides westeri* n. sp. bei denselben. 370. 372
- Gasbacillus* Fraenkel, Untersuchung. 172
- Gasbrand-Erreger, Vergleich mit denen des malignen Oedems. 166
- Geißeln, Färbung. 270
- Genetta vulgaris*, Wirt von *Filaria quadrispina*. 265
- Glossiphonia bioculata*, geographische Verbreitung. 265
- Glykokoll, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 249
- Goldchlorid, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 245
- Gongylonema filiforme*, geographische Verbreitung. 265
- Gonokokken, Färbung. 188
- , Nachweis. 188
- Guarnierische Körperchen bei Variola. 91
- Haemogregarina bornandi* n. sp. bei *Tropidonotus natrix*. 270
- Harn, Wassermannsche Reaktion mit demselben. 450
- Hefeextrakt-Nährböden. 380
- Heterachis papillosa* bei *Numida*. 268
- *perspicillum* bei *Numida*. 268
- Hirudo medicinalis*, geographische Verbreitung. 265
- Hornhaut, Kaninchen-, experimentelle Pockenepitheliose und Mischinfektionen. 361
- Hypudeus glareolus*, Wirt von *Ixodes tenuirostris*. 266
- Indol, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 248
- Infektionen, Laboratoriums-, Verbreitung. 456
- Infektionskrankheiten, Resistenzbeeinflussung von Versuchstieren gegenüber denselben. 242
- Jodnatrium, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 244
- Ixodes tenuirostris*, geographische Verbreitung. 266
- Kälber, Paracolibazillose, durch Bakterien der Paratyphus-Gärtner-Gruppe verursacht. 350
- Kaninchen - Hornhaut, experimentelle Pockenepitheliose und Mischinfektionen. 361
- , Räude, Uebertragung durch Katzen. 269
- , Tetanus bei einem kastrierten —. 267
- Katzen, Räudeübertragung auf Kaninchen. 269
- Kokken, Luft-, Wirkung von Metachromgelb. 123
- , durch Metachromgelb gehemmt. 120. 219
- Komplementbindung bei choleraähnlichen Vibrionen. 132
- — Schafpocken. 190
- Konservierung von Parasiten. 270
- Kresol, wasserlösliches, „Fawestol“, Untersuchungen. 374
- , Wirkung auf die Agglutininbildung. 206
- , — — Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 246
- Kresolseife, Wirkung auf Bakterien. 376
- Kupferchlorid, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 245
- Laboratoriumsinfektionen, Verhütung. 456
- Lambliia intestinalis*, Färbung usw. 271
- —, geographische Verbreitung. 265
- Leucodon araneus*, Wirt von *Nematoideum soricis aranei*. 265
- —, Wirt von *Trichosoma splenaceum*. 265
- Leuzin, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 249
- v. Liebermann und Acélsche Vereinfachung der Widalschen Reaktion. 117
- Limax agrestis*, Verbreitung von Helmintheneiern. 269
- Luftkokken, Wirkung von Metachromgelb. 123
- Macrodera longicollis*, geographische Verbreitung. 265
- Magnesiumchlorid, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 245
- Malaria-Parasiten, Färbung. 105
- Maus* s. a. *Mus*.
- , *Protospirura muris* bei derselben. 269
- Meerschweinchen, Wirt von *Ceratophyllus fasciatus*. 266
- Menthen, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 246
- Metachromgelb als Hemmungsmittel für Kokken und Sporenbildner und seine Verwendbarkeit für Nährböden zur Typhus-Ruhr-Diagnose. 120. 219
- Wasserblau-Dreifarbennährboden, Erneuerung. 253
- — — zur Typhus-Ruhr-Diagnose. 219. 253

- Micrococcus candicans*, Variabilität. 404  
 — *gonococcus*, Färbung. 188  
 — —, Nachweis. 188  
*Microsoma variolae*. 102  
*Microthrombidium pusillum*, geographische Verbreitung. 265  
 Mücken, Bekämpfung mit Aethrol. 271  
*Mus decumanus*, Wirt von *Blastocystis muris*. 264  
 — *musculus*, Wirt von *E. falciformis*. 264  
 — *rattus*, Wirt von *Blastocystis muris*. 264  
 — —, Wirt von *Entamoeba muris*. 264  
 — *silvaticus*, Wirt von *Strongylus polygyrus*. 265  
*Musca domestica*, Wirt von *Chernes nodosus*. 266  
 Mutation bei choleraähnlichen Vibrionen. 129  
 Mykose, Kriterien für die Aufstellung einer neuen M. 266  
 Nährboden, Agar-, Wiedergewinnung. 222. 472  
 —, Hefextrakt-. 380  
 —, Metachromgelb-Wasserblau-Dreifarben. 253  
 —, Regenerierung. 222. 253. 472  
*Natriumpropionat*, Wirkung auf die Agglutininbildung. 206  
*Natriumsulfat*, Wirkung auf die Agglutininbildung. 203  
 —, — — Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 244  
 Nematoden, Züchtung auf Agarplatten. 467  
*Nematoideum soricis aranei*, geographische Verbreitung. 265  
*Nematosis ornatus*, Züchtung auf Agarplatten. 469  
*Niptus hololeucus*, Verbreitung, Bekämpfung. 269  
 Novocain, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 247  
*Numida*, Polyhelminthiasis. 268  
 Oedem, malignes, Erreger, Vergleich mit denen des Gasbrandes. 166  
*Opalina ranarum*, geogr. Verbreitung. 265  
*Ophiotania flava*, Drüsenorgan. 465  
 — *hyalina*, Drüsenorgan. 465  
*Oxyoma brevicaudatum*, geographische Verbreitung. 265  
 Paracolibazilliose der Kälber, durch Bakterien der Paratyphus-Gärtner-Gruppe verursacht. 350  
*Paraffinum liquidum* zur Erhaltung von Dieudonné's Blut-Alkali-Mischung. 383  
 Paragglutination. 196  
 — bei Cholera. 287  
 —, Dauer. 107  
 Paraldehyd, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 247  
 Parasiten, Färbung. 270  
 —, Fixierung. 270  
 —, Konservierung. 270  
 Parasitologie, Technik u. Untersuchungen. 264  
 Paratyphus der Tiere, Zusammenhang mit dem Paratyphus des Menschen. 413  
 Paschensche Körperchen bei Variola. 91  
 Pentamethyldiamin, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 248  
 Pepton, Serum-, zur Choleradiagnose. 12  
 —, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 249  
*Perca fluviatilis*, Wirt von *Echinorhynchus salmonis*. 265  
 Pferde, *Strongyloides Westeri* n. sp. bei denselben. 370  
 Phytoparasiten, Untersuchungen. 266  
 Pinen, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 245  
 Pipette zur Verhütung von Laboratoriumsinfektionen. 456  
 Pocken, Aetiologie. 89  
 —, Chlamydozoon variolo-vaccinae, Rolle desselben. 89  
 — -Epitheliose, experimentelle, auf der Kaninchenhornhaut, und Mischinfektionen. 361  
 —, Guarnierische Körperchen. 91  
 —, Paschensche Körperchen. 91  
 —, Schaf-, Komplementbindung. 190  
*Polyplax villosa*, geographische Verbreitung. 266  
*Porocephalus* bei *Bitis nasicornis*. 269  
*Protospirura muris* bei einer weißen Maus. 269  
 Pulegon, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 245  
*Pulex dugesi*, geogr. Verbreitung. 266  
 Räude, Uebertragung von Katzen auf Kaninchen. 269  
*Rana temporaria*, Wirt von *Opalina ranarum*. 265  
 Ratin, 10-jährige Erfahrungen. 213  
 Ratinin zur Rattenbekämpfung, 5-jährige Erfahrungen. 217  
 Ratten s. a. Mus.  
 —, Bekämpfung mit Ratin. 213  
 —, — — Ratinin. 217  
 — -Tuberkulose. 266  
 Rauschbrand-ähnliche Krankheit der Schweine, Bakteriologie. 40  
 Ruhr, Diagnose mittels Metachromgelbs. 120. 219. 253  
*Salamandra maculosa*, Wirt von *Eimeria salamandrae*. 264  
 Salze, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten. 244  
*Sarcina lutea*, Knopfbildung. 405  
 Schafpocken, Komplementbindung. 190  
*Schistosomum haematobium*, geographische Verbreitung. 265  
 Schnecken, Verbreitung von Helmintheneiern. 269  
 Schweine, Bradsot ähnliche Krankheit, Bakteriologie. 40  
 —, Emphysema oedematosum. 64  
 —, Rauschbrand-ähnliche Krankheit, Bakteriologie. 40

Schweinepest, <i>Bacillus suispestifer</i> als Erreger.	339	<i>Trichosoma splenaceum</i> , geographische Verbreitung.	265
Serumdiagnose des Typhus abdominalis.	1. 117	— strumosus bei Numida.	268
Serumpepton zur Choleradiagnose.	12	<i>Tropidonotus natrix</i> , Wirt von <i>Angioctonus fuscovenosus</i> .	265
Skatol, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten.	248	— — — <i>Haemogregarina bornandi</i> .	270
<i>Sorex vulgaris</i> , Infektion mit <i>Distoma migrans</i> .	268	— — — <i>Macrodera longicollis</i> .	265
<i>Spirochaete bronchialis</i> , Färbung.	270	Tuberkulose der Ratten.	268
— <i>dentium</i> , Färbung.	270	<i>Typhlopsylla gracilis</i> , geographische Verbreitung.	266
— <i>pallida</i> , Färbung.	270	Typhus abdominalis, bakteriologische Diagnose, Leistungen.	1
— <i>vincenti</i> , Färbung.	270	— —, Diagnose mittels Agglutination.	1. 117.
<i>Spiroptera peloti</i> n. sp. bei einem Fische.	268	— — — <i>Metachromgelbs</i> . 120. 219. 253	
Sporenbildner, durch <i>Metachromgelb</i> gehemmt.	120. 219	Typhus abdominalis, Widal'sche Reaktion, durch Liebermann u. Acél vereinfacht.	117
<i>Staphylococcus pyogenes</i> , Wirkung von <i>Metachromgelb</i> .	123	— exanthematicus, Weil-Felix'sche Reaktion.	111. 304
<i>Staphylokokken</i> , Variabilität.	404	Tyrosin, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten.	249
—, Wirkung von Fawestol.	376	Urethan, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten.	247
— — — Kresolseifen.	376	<i>Variola</i> s. Pocken.	
<i>Streptococcus acidi lactici</i> , Wirkung von <i>Metachromgelb</i> .	123	Versuchstiere, Resistenzbeeinflussung gegenüber Infektionskrankheiten.	242
<i>Strongyloides intestinalis</i> , geographische Verbreitung.	265	<i>Vibrio cholerae</i> ähnliche Vibrionen, Agglutination.	132
— <i>westeri</i> n. sp. bei Füllen.	370	— — — —, Komplementbindung.	132
<i>Strongylus polygyrus</i> , geographische Verbreitung.	265	— — — — und ihre Mutationsvorgänge.	129
Strontiumchlorid, Wirkung auf die Agglutininbildung.	203	— —, Wirkung von Fawestol.	376
<i>Syngamus trachealis</i> bei Numida.	268	— —, — — Kresolseife.	376
<i>Talpa europaea</i> , Wirt von <i>Typhlopsylla gracilis</i> .	266	Wassermann'sche Reaktion im Blutserum, Bauchhöhlenflüssigkeit und Harn desselben Kranken.	450
Terpentineol, Wirkung auf die Resistenz gegenüber Infektionskrankheiten.	245	Weil-Felix'sche Reaktion, Praxis u. Theorie.	111. 304
Tetanus bei einem kastrierten Kaninchen.	267	Widal'sche Reaktion, vereinfacht durch Liebermann und Acél.	117
Thrombidiasis der Ziegen.	265	Zecken, Bekämpfung mit Aethrol.	271
Tiere, Versuchs-, Resistenzbeeinflussung gegenüber Infektionskrankheiten.	242	Ziegen, Thrombidiasis.	265
Toxin, Dysenterie-.	33	—, Wirte von <i>Microthrombidium pusillum</i> .	265
<i>Trichocephalus nodosus</i> , geographische Verbreitung.	265	Zooparasiten, Untersuchungen.	267
— <i>trichiurus</i> , Eierv Verbreitung durch Schnecken.	269		

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

<i>Amoeba limax</i> , Chemie. (Taf.)	84	<i>Bacterium coli</i> , Variabilität. (Taf. I—III.)	408
Amöben, Chemie. (Taf.)	84	— — mutabile, Variabilität. (Taf. I—III.)	408
<i>Bacillus dysenteriae</i> , Variabilität. (Taf. II.)	408	<i>Bitis nasicornis</i> , Darmcysten.	269
— <i>paracoli</i> , Variabilität. (Taf. I.)	408	Bradsot ähnliche Krankheit der Schweine. (Taf. I—V.)	48
— <i>paratyphi</i> , Variabilität. (Taf. II.)	408		
— <i>typhi</i> , Variabilität. (Taf. I—III.)	408		

Cysten, Darm-, bei <i>Bitis nasicornis</i> .	269	Pocken, Aetiologie. (Taf. I, II.)	104
Darmcysten bei <i>Bitis nasicornis</i> .	269	— -Epitheliose der Kaninchenhornhaut	
<i>Dibothriocephalus latus</i> , Eier	268	und Mischinfektionen.	362—366
Drüsenorgan bei <i>Ophiotaenia hyalina</i> .	466	—, Guarnierische Körperchen. (Taf. I, II.)	104
Guarnierische Körperchen. (Taf. I, II.)	104	—, Hornhautinfektion.	95, 98
<i>Haemogregarina bornandi</i> n. sp.	269	—, Initialkörperchen.	93
Initialkörperchen.	93	—, Paschensche Körperchen.	92
Kaninchen-Hornhaut, Pockenimpfung.	95, 98	Ratten-Tuberkulose.	267
<i>Malaria</i> -Parasiten, Färbetechnik.	106	Rauschbrand ähnliche Krankheit der	
<i>Micrococcus candidans</i> , Variabilität. (Taf. I.)	408	Schweine. (Taf. I—V.)	48
— <i>gonococcus</i> , Nachweis. (Taf.)	188	<i>Sarcina lutea</i> , Knopfbildung. (Taf. I.)	408
<i>Numida</i> . Polyhelminthiasis.	268	Schweine, Rauschbrand u. Bradsot ähnliche	
<i>Ophiotaenia hyalina</i> , Drüsenorgan.	466	Krankheiten. (Taf. I—V.)	48
Paschensche Körperchen.	92	<i>Strongyloides</i> .	371
Pipette zur Verhütung von Laboratoriums-		Tuberkulose der Ratten.	267
infektionen.	460	Würmer bei <i>Numida</i> .	268

---

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4606

---

258611











St.

